Aus der Klinik für Tiergeburtshilfe und Klauentierkrankheiten
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

Direktor: Prof. Dr. H. J. Heidrich

Untersuchungen über die Brauchbarkeit der papierelektrophoretischen Serumeiweißanalyse, der Gesamteiweiß- und der Gerinnungsvalenzbestimmung sowie der abgestuften Takata-Reaktion für die Leberdiagnostik beim Rind

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

GOTTFRIED HAUBOLD
Tierarzt aus Bautzen

Berlin 1963

Journal-Nr. 443

Aus der Klinik für Tiergeburtshilfe und Klauentierkrankheiten der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. H.J. Heidrich

Untersuchungen über die Brauchbarkeit der papierelektrophoretischen Serumeiweißanalyse, der Gesamteiweiß- und der Gerinnungsvalenzbestimmung sowie der abgestuften Takata-Reaktion für die Leberdiagnostik beim Rind

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Gottfried Haubold
Tierarzt aus Bautzen

Berlin 1963
Journal-Nr. 443

Gedruckt mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen
Fakultät der Freien Universität Berlin

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Dekan: Prof. Dr. Heidrich
Referent: Prof. Dr. Heidrich
Korreferent: Doz. Dr. Lettow

Tag der Promotion: 18.Dezember 1963

Fotodruck: Mikrokopie G.m.b.H. München 2, Weinstr. 4

Inhaltsübersicht

		Seite
I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURBESPRECHUNG	3
	1. Die Prüfung der Leberfunktion	3
	2. Die Eiweißkörper des Blutplasmas	9
	A. Allgemeines	9
	B. Die Eiweißfraktionen des Blutplasmas	11
	3. Die elektrophoretische Analyse der Serumproteine	14
	A. Die Methodik der Elektrophorese	14
	B. Die Gesamteiweißbestimmung im Blutserum	34
	C. Die diagnostische Bedeutung der elektrophoretischen Serumeiweiß-analyse und der Gesamteiweißbe-stimmung	37
	4. Die Takata-Reaktion	57
	A. Grundlagen der Takata-Reaktion	57
	B. Die Methodik der Takata-Reaktion	57
	C. Die diagnostische Bedeutung der Takata-Reaktion	58
	5. Die Prothrombinbestimmung	60
	A. Die Physiologie der Blutgerinnung	60
	B. Methoden der Bestimmung der Gerinnungsfaktoren	65
	C. Der diagnostische Wert der Prothrombinbestimmung	70
III.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	79
	A. Untersuchungsmaterial und Unter-suchungsmethoden	79
	B. Bestimmung der Normalwerte und physiologischen Schwankungen	90
	C. Untersuchungen an Schlachtrindern	96
	D. Untersuchungen an experimentell lebergeschädigten Rindern	116
	E. Besprechung der Untersuchungsergebnisse	122
IV.	ZUSAMMENFASSUNG	144
V.	LITERATURVERZEICHNIS	147

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548012_0075

I. EINLEITUNG

Erkrankungen der Leber des Rindes verlaufen in den meisten Fällen ohne typische pathognostische Symptome und sind deshalb diagnostisch häufig schwer zu erfassen.
Auch die Anwendung konventioneller klinischer Untersuchungsmethoden ermöglicht nur selten die exakte Erkennung und Beurteilung primärer und sekundärer Hepatopathien des Rindes. Die Endoskopie hat ebenfalls nur beschränkten Wert für die Leberdiagnostik, da beim Rind mit dem Endoskop lediglich ein sehr kleiner Teil der Leberoberfläche betrachtet werden kann. Die Biopsie, die beim Rind nur als blinde Punktion durchführbar ist, gestattet ebensowenig eine präzise Aussage über den Zustand der Leber, da nicht immer diffuse Leberschäden vorliegen und die Möglichkeit besteht, daß die Gewebsprobe zufällig aus einem lokalen Herd entnommen wurde. Die Unzulänglichkeit der genannten klinischen Untersuchungen für die Leberdiagnostik beim Rind macht es erforderlich, nach anderen diagnostischen Hilfsmitteln zu suchen. Auf humanmedizinischem Gebiet haben Funktionsproben in der Klinik der Lebererkrankungen große Bedeutung erlangt. Die Ergebnisse solcher Tests ermöglichen, wenn sie im Rahmen des klinischen Gesamtbildes bewertet werden, vielfach eine präzisere Diagnose und besonders eine bessere Beurteilung des Verlaufes der Lebererkrankungen sowie eine Kontrolle des therapeutischen Erfolges. Die physiologischen Verschiedenheiten beim Menschen und bei den einzelnen Tierarten, insbesondere in bezug auf die Zusammensetzung der Bluteiweißkörper, machen es erforderlich, zu überprüfen, ob die einzelnen beim Menschen angewandten Leberfunktionsprüfungen auch bei Tieren einen diagnostischen Wert haben. Aus einer Reihe von Veröffentlichungen im veterinärmedizinischen Schrifttum geht hervor, daß verschiedene in der Humanmedizin gebräuchliche Leberfunktionstests sich auch bei Hunden als Hilfsmittel für die Leberdiagnostik eignen. Dagegen kamen Leberfunktionsproben beim Rind bisher nur in geringem Umfang zur Anwendung, obwohl Hepatopathien bei diesen Tieren sehr häufig auftreten. Leberfunktionsstörungen beim Rind können, bedingt durch

die zentrale Stellung der Leber im Stoffwechsel des Organismus, zu erheblichen Leistungsminderungen und damit zu bedeutenden wirtschaftlichen Verlusten führen. Es ist daher wichtig, Leberschäden frühzeitig zu erkennen. Nur dann kann die Behandlung einer Lebererkrankung oder - bei sekundärer Leberschädigung - auch des Grundleidens sinnvoll und erfolgreich sein. Ist eine Lebererkrankung beim Rind jedoch schon im Initialstadium prognostisch ungünstig zu beurteilen, so kann durch rechtzeitige Erkennung des Schadens und baldige Schlachtung der wirtschaftliche Verlust eingeschränkt werden.
Die geringe Zahl der bisherigen Veröffentlichungen über Leberfunktionsprüfungen am Rind gibt Veranlassung, weitere Untersuchungen über den diagnostischen Wert solcher Tests durchzuführen. Von Herrn Professor Dr. HEIDRICH wurde mir die Aufgabe gestellt, an Schlachtrindern und an experimentell mit Tetrachlorkohlenstoff geschädigten Versuchsrindern der Klinik für Tiergeburtshilfe und Klauentierkrankheiten der Freien Universität Berlin zu prüfen, ob die papierelektrophoretische Analyse der Serumproteine, die Gesamteiweiß- und die Prothrombinbestimmung sowie die Takata-Reaktion geeignete Methoden sind, um akute und chronische Leberschäden bei Rindern zu erfassen und zu beurteilen.

In der genannten Klinik wurden gleichzeitig und zum Teil an den gleichen Tieren weitere Leberfunktionsprüfungen (Bestimmung der Fermente Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase [SGOT], Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase [SGPT], Serum-Lactatdehydrogenase [LDH], alkalische und saure Phosphatase; Bromsulphalein-Test; Eiweißkoagulationsprobe nach Weltmann; Serum-Gesamtbilirubin und Harn-Urobilinogenbestimmung) durchgeführt. Durch Zusammenfassung und Gegenüberstellung aller Ergebnisse wird es möglich sein, die Brauchbarkeit der einzelnen Laboruntersuchungen für die Leberdiagnostik beim Rind zu beurteilen.

II. LITERATURBESPRECHUNG

1. Die Prüfung der Leberfunktion

Entsprechend der Vielfalt von Aufgaben, die die Leber im Stoffwechselgeschehen des Körpers zu erfüllen hat, gibt es zahlreiche Möglichkeiten, die Funktionsfähigkeit dieses Organs zu prüfen. Die Teilfunktionen der Leber sind bei ein und derselben Krankheit in wechselndem Maße und in unterschiedlichen Stadien gestört; es gibt kaum ein Krankheitsbild, das alle Funktionen gleichzeitig verändert zeigt (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952). Deshalb ist eine fundierte Diagnose bei Lebererkrankungen häufig nur nach Durchführung mehrerer, den unterschiedlichen Funktionen Rechnung tragenden Proben möglich.

GOHR (1960) gibt die Zahl der bisher in der humanmedizinischen Literatur veröffentlichten funktionellen Leberuntersuchungsmethoden mit 300 bis 400 an. SCHÄFER (1951) unterscheidet zwei Gruppen von Leberfunktionsproben: Unter Funktionsproben im engeren Sinn versteht man solche Tests, bei denen die Leber mit verschiedenen Stoffen (Farbstoffen, Zuckerarten, Aminosäuren, Milchsäure u.a.m.) künstlich belastet wird. Aus der Verwertungs- und Eliminierungsfähigkeit der Leber für diese Stoffe kann man auf die Funktionstüchtigkeit schließen. Bei den Funktionsprüfungen im weiteren Sinn handelt es sich um Bestimmungen von Bestandteilen im Blut und Harn, die bei Hepatopathien pathologische Werte erbringen.

Die Leber verfügt über erhebliche Funktionsreserven. Deshalb ist ihre Leistungsfähigkeit bei geringgradigen Schädigungen und vor allem bei umschriebenen Prozessen häufig nicht beeinträchtigt. Entscheidend für den Ausfall der einzelnen Lebertests ist weiterhin, ob die Erkrankung in erster Linie das Leberparenchym betrifft, oder ob hauptsächlich das Interstitium mit dem zum reticuloendothelialen System gehörenden Sternzellen geschädigt ist. - Auf die Möglichkeiten, durch Funktionsprüfungen zu differenzieren, welche Zellgruppen der Leber geschädigt sind, soll später eingegangen werden.

Bei der großen Anzahl von Leberfunktionsproben, die in der Humanmedizin entwickelt wurden, ist es unmöglich, alle gleichzeitig und bei jedem Patienten durchzuführen. Deshalb ist es für die Erkennung von Lebererkrankungen erforderlich, eine Reihe von bewährten Proben sinnvoll auszuwählen, die in ihrer Gesamtheit einen möglichst großen Anteil der Vielseitigkeit der Leberfunktionen erfassen. Die zur Erkennung der Hepatopathien des Menschen wertvollsten Leberfunktionsproben wurden von GOHR (1960) in einer Übersicht zusammengestellt, die in Tabelle 1 mit geringfügigen Änderungen wiedergegeben ist.

Bisher wurde nur ein Teil der in der Humanmedizin gebräuchlichen Leberfunktionstests auf seinen Wert für die Diagnostik der Hepatopathien des Rindes geprüft. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wird untersucht, welche Veränderungen im Bluteiweißbild des Rindes bei akuten und chronischen Leberschäden auftreten. Weitere bisher beim Rind angewandte Leberfunktionsprüfungen und die Ergebnisse verschiedener Autoren sind im Folgenden kurz umrissen:

Der Bromsulphalein- (BSP-) Test

Dieser Test beruht auf der Fähigkeit der Leber, im Blut befindliches Bromsulphalein über die Galle zu eliminieren und auszuscheiden. Bei Leberschädigung ist die Ausscheidung mehr oder weniger stark verzögert. Die gemessene BSP-Retention gibt Auskunft über den Grad der Veränderungen im Lebergewebe. Der BSP-Test ist eine für die Leberdiagnostik beim Rind geeignete Funktionsprobe (FREESE, 1952; WERNER, 1960; GRÜNDER, 1961; HUHN, 1961). Nach FREESE (1952) sind Retentionen zwischen 0,0 und 3,0 %, nach WERNER (1960) solche von 0,0 bis 1,6 % bei einer Dosis von 2mg pro kg Körpergewicht 25 Minuten p.i. normal. Erhöhte Retentionen konnten von den Autoren vor allem bei Indigestionen, Intoxikationen, Distomatose, Stauungsleber, Reticulitis traumatica, Ketosen und anderen puerperalen Stoffwechselstörungen ermittelt werden. GRÜNDER (1961) bestimmte erhöhte Retentionswerte bei akut leberkranken Rindern in 65,6 % und bei chronisch leberkranken in 55,2 % der Fälle.

T a b e l l e I

Übersicht der wichtigsten Leberfunktionsprüfungen
(nach GOHR, 1960)

I. Gallenfarbstoff-Stoffwechsel

1. quantitativer Nachweis von Bilirubin in Blut und Harn
2. quantitative Bestimmung von Urobilin(ogen) und Sterkobilin(ogen) in Harn und Stuhl
3. Nachweis von Propentdyopent im Harn

II. Eiweißstoffwechsel

1. Bluteiweißbild: Gesamteiweißbestimmung; Gerinnungstests; Elektrophorese der Serumeiweißkörper
2. Serumlabilitätsreaktionen (Trübungs- und Flockungstests): Sublimatreaktionen (Takata-Reaktion und Flockungszahl); Kalziumchlorid-Reaktion (Weltmann); Cadmiumsulfat-Reaktion; Thymoltest; Cephalintest;
3. quantitative Erfassung der Serummukoproteine
4. Belastung mit Aminosäuren (Histidin; Methionin)
5. Nachweis vermehrter Ausscheidung von Aminosäuren (Tyrosin; Leucin) im Harn (Millonsche Probe)

III. Kohlenhydratstoffwechsel

1. Belastung mit Dextrose, Lävulose, Galaktose und Milchsäure;
2. Messung der quantitativen Glukuronsäureausscheidung im Harn nach Glukosebelastung

IV. Fett- und Lipoidstoffwechsel

quantitative Bestimmung der Cholesterin- und Cholesterinesterkonzentration im Serum

V. Wasser- und Mineralhaushalt

1. Wasserbelastung (nach Wollheim und nach Volhard)
2. quantitativer Nachweis von Eisen und Kupfer im Serum

VI. Vitamin- und Fermentstoffwechsel

1. Vitamin-K-Test nach Koller

2. Fermentaktivitätsbestimmung: Transaminasen, Lactatdehydrogenase, alkalische und saure Phosphatase und Aldolasen im Serum

VII. Entgiftungstests

1. Hippursäuretest nach Quick
2. Testazidprobe nach Felix

VIII. Prüfung der Eliminierungsfähigkeit

Bromsulphaleintest, Prontosiltest, Methylenblauprobe, Zweifarbstofftest mit Bromsulphalein und Trypanrot

IX. Anwendung radioaktiver Substanzen

1. Kontrolle der Durchblutungsverhältnisse und Eliminierungsfähigkeit
2. bildliche Darstellung der Leber (Vergrößerung, Cysten, Lebermetastasen, mechanischer Verschluß der Gallenwege)

Nach experimenteller Leberschädigung durch perorale Applikation von 5 bis 20 ml Tetrachlorkohlenstoff erhielt WERNER (1960) bei 7 Versuchsrindern besonders hohe Retentionswerte (bis 47 %).

Der Milchsäure-Belastungstest

Milchsäure wird in der Leber zu Glykogen synthetisiert. Bei Leberschäden ist dieser Vorgang gestört und verzögert. Nach intravenöser Applikation von Milchsäure (Natrium-Lactat) steigt die Milchsäurekonzentration im Blut beim Vorliegen von Leberschäden höher an und fällt später ab, als es bei gesunden Lebern der Fall ist. ROSS (1931) ermittelte beim Rind einen normalen Blut-Milchsäurespiegel von 7,0 bis 11,0 mg %. Nach Belastung mit Milchsäure erhöhte sich die Milchsäurekonzentration im Blut bei gesunden Rindern nicht. Deutliche bis starke Anstiege traten bei Hepatitis interstitialis und bei Distomatosefällen auf.

Der Prontosil-Ausscheidungstest

Beim Menschen wird Prontosil zu gleichen Teilen über Leber und Galle und über Nieren ausgeschieden. Bei Leberparenchymschäden ist die Ausscheidung verzögert. Während normalerweise im Verlauf von 24 Stunden insgesamt etwa 50 % des injizierten Prontosils im Harn nachzuweisen sind, tritt bei Leberschäden in dieser Zeit eine höhere Prontosilmenge im Harn auf.

Nach Belastung mit Prontosil an 19 gesunden, 6 leberkranken und 3 anderweitig erkrankten Rindern konnte CONRADS (1957) keine Unterschiede in der Menge des ausgeschiedenen Prontosils feststellen. Diese Methode ist somit für die Leberdiagnostik beim Rind nicht geeignet.

Fermentbestimmungen im Serum

Eine Sonderstellung in der Leberdiagnostik nehmen die verschiedenen Enzymtests ein. Hier handelt es sich nicht um Methoden zur Erfassung gestörter Funktionen sondern um den

Nachweis organischer Zellschädigungen. Bei diesen gehen zahlreiche Zellfermente mengenmäßig proportional dem Grad der Schädigung und der spezifischen Konzentration im Ursprungsgewebe in das Blut über. Die Bestimmung ihrer Konzentration im Serum gestattet Rückschlüsse auf den Ort und die Intensität pathologischer Prozesse.
Bei leberkranken Rindern wurden die Fermentaktivitäten der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT), Lactatdehydrogenase (LDH) und der alkalischen und sauren Phosphatase im Serum untersucht. Akute, durch Tetrachlorkohlenstoff experimentell erzeugte Leberschäden bei 10 Rindern führten zu einer Erhöhung der SGOT um das 30- bis 102fache, der SGPT um das 20- bis 39-fache und der LDH um das 11- bis 34fache der Normalwerte (HUHN, 1961). Bei Ketosen, Gebärparesen, Reisetetanien und Indigestionen in mehr als 75 % der Fälle auftretende Erhöhungen der SGOT- und LDH-Aktivitäten und das Auftreten der sauren Phosphatase können als Beweise für das Vorliegen eines akuten Leberschadens im Verlauf dieser Erkrankungen angesehen werden. Relativ geringes Ansteigen der SGOT-Werte und das Ausbleiben erhöhter SGPT-Aktivität bei Reisetetanie, Gebärparese und Indigestion sprechen im Gegensatz zu den bei Ketosen ermittelten Werten für eine nur geringgradige Leberschädigung (HUHN, 1961).

An einem Patientenmaterial von 125 akut und chronisch lebergeschädigten und an Acetonämie erkrankten Rindern ermittelte GRÜNDER (1961) die Fermentaktivitäten von SGOT und SGPT. Die SGOT-Werte waren bei 75 % der akuten, bei 3% der chronischen Lebererkrankungen und bei 21,7 % der Acetonämien deutlich erhöht. SGPT trat bei den akuten Lebererkrankungen nur in 16,7 %, bei chronischen Lebererkrankungen in 1,6 % und bei Acetonämien in 4,3 % der Fälle vermehrt im Serum auf. Diese Ergebnisse zeigen, daß für die Leberdiagnostik beim Rind in erster Linie die Bestimmungen der Serumaktivität von GOT und LDH wertvoll sind.

Die Methylenblau-Probe zum Nachweis von Bilirubin im Harn

Der diagnostische Wert der Methylenblau-Probe für den Bilirubinnachweis im Rinderharn bei Lebererkrankungen wird übereinstimmend wegen der begrenzten Spezifität als gering bezeichnet (HEIDRICH, 1954; FISCHER, 1956; GRÜNDER, 1961). Auch ein Teil der gesunden Rinder weist positive Harnreaktionen auf. Stark positive Reaktionen treten allerdings dann nur bei Lebererkrankungen auf (GRÜNDER, 1961).

Die Bestimmung von Urobilinfarbstoffen im Harn

Normaler Rinderharn enthält 0,11 mg % Urobilinfarbstoffe; bei Leberparenchymschädigungen läßt sich mit der quantitativen Bestimmung nach HEILMEYER und KREBS erhöhte Urobilinausscheidung mit dem Harn nachweisen. Vermehrte Ausscheidung dieser Gallenfarbstoff-Stoffwechselprodukte tritt jedoch auch bei anderen Erkrankungen auf, so daß von einer Leberspezifität nicht gesprochen werden kann (PLATEN, 1938). Gleiches gilt auch für den Nachweis des Urobilinogens im Harn mit der EHRLICH'schen Aldehydprobe, die zudem nur qualitative Aussagen zuläßt (KRISPIEN, 1952).

2. Die Eiweißkörper des Blutplasmas

A. Allgemeines

Die Bluteiweißkörper haben eine große Bedeutung im biologischen Geschehen. Zu ihren Aufgaben gehören die Aufrechterhaltung des Blutvolumens und des kolloidosmotischen Druckes, die Pufferung, der Transport von Fett, Hormonen, Antikörpern, Farbstoffen, Medikamenten und anderen Stoffen sowie die Blutgerinnung. Außerdem dienen die Proteine des Blutplasmas der Eiweißernährung der Gewebe.

Am Gesamtblut hat das Plasmaeiweiß einen Anteil von etwa 4 %. Die Erfüllung der großen Aufgaben der Bluteiweißkörper ist nur dadurch möglich, daß sie im Plasma - bedingt

durch die Größe ihrer Moleküle - kolloidal gelöst sind und infolgedessen im Verhältnis zu ihrer geringen Menge eine sehr große Oberfläche besitzen (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952).

Das Plasmaeiweiß stellt ein heterogenes Gemisch von zahlreichen unterschiedlich konfigurierten Proteinmolekülen dar, denen entsprechend ihren morphologischen Merkmalen bestimmte Funktionen zukommen. Die Auftrennung dieses Gemisches in die Proteinkomponenten ist auf Grund der verschiedenen Eigenschaften der einzelnen Eiweißmolekülarten möglich. So wird bei den Fällungsmethoden die unterschiedliche Löslichkeit der Proteine in Wasser- und Salzlösungen zu ihrer Isolierung benutzt. Durch Elektrophorese kann ein Eiweißgemisch infolge der verschiedenen Wanderungsgeschwindigkeiten der Proteine im elektrischen Feld in Komponenten aufgetrennt werden. Die mit diesen Verfahren erhaltenen Fraktionen bestehen jedoch nicht aus einheitlichen Eiweißmolekülen sondern aus Gruppen von Molekülen, die sich nur unter gleichen physikochemischen Bedingungen durch gleiche Löslichkeit bzw. gleiche elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit auszeichnen, sich aber in Molekülgröße, Struktur, Molekulargewicht und biologischer Funktion erheblich unterscheiden können. Die mit verschiedenen Untersuchungsmethoden gefundenen Fraktionen sind also nicht vergleichbar.

Die Zusammensetzung des Plasmaeiweißes und damit auch die Größe der Fraktionen wird jedoch vom gesunden Organismus sehr konstant erhalten. Sie ändert sich erst unter bestimmten pathologischen Bedingungen. Deshalb hat die Bluteiweißanalyse eine große Bedeutung als Hilfsmittel für die klinische Diagnostik. Mit den oben genannten Verfahren können in erster Linie quantitative Veränderungen im Bluteiweißbild ermittelt werden. Zur Untersuchung der Plasmaproteine und zur weiteren Differenzierung der aus Gruppen von Molekülen bestehenden Eiweißfraktionen eignen sich besonders die Ultrazentrifugation und die Papierchromatographie. Die Untersuchung mit der Ultrazentrifuge dient der Feststellung der Molekulargewichte der einzelnen

Proteinkomponenten. Klinische Bedeutung besitzt dieses Verfahren vor allem zum Nachweis von qualitativen Veränderungen im Plasmaeiweiß, die durch das Auftreten atypischer Eiweißkörper mit extrem hohen oder niedrigen Molekulargewichten gekennzeichnet sind. Durch Papierchromatographie lassen sich die Bausteine der Bluteiweißkörper - die Aminosäuren - charakterisieren und somit auch pathologische Veränderungen im Aufbau der Proteine erkennen. Während die Ergebnisse der Ultrazentrifugation vielfach auch zu quantitativen Aussagen verwendet werden, zieht man die Resultate der papierchromatographischen Eiweißuntersuchung in erster Linie zur qualitativen Diagnostik heran (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952).

Große klinische Bedeutung zum Nachweis von Verschiebungen im Bluteiweißbild haben auch die Labilitätsreaktionen (Tabelle 1). Unter diesem Begriff werden verschiedene Untersuchungsmethoden zusammengefaßt, die einen positiven Ausschlag geben, wenn die Zusammensetzung der Plasma- bzw. Serumproteine in quantitativer oder qualitativer Hinsicht verändert ist.

B. Die Eiweißfraktionen des Blutplasmas

Man unterscheidet bei den Eiweißkörpern des Blutplasmas zwischen den Sphäroproteinen Albumin und Globulin und dem Linearprotein Fibrinogen. Die Sphäroproteine haben annähernd die Form von Rotationsellipsoiden mit einem Achsenverhältnis von 1:4 (Albumine) bis 1:9 (Globuline). Die Fibrinogenteilchen besitzen ein Achsenverhältnis von 1:30 und werden deshalb den Fadenmolekülen zugerechnet (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952). Während die Albumine und Fibrinogenteilchen sich jeweils durch einheitliche Molekulargewichte auszeichnen, besteht das Globulin aus Molekülen unterschiedlichen Gewichtes. Früher wurde das Serumglobulin in Eu- und Pseudoglobulin unterteilt. Diese Abgrenzung ergab sich bei der Serumeiweißanalyse durch Aussalzung. Heute wird allgemein zwischen α-, β- und γ-Globulinen unterschieden. Diese Benennung wurde von

TISELIUS im Jahre 1937 eingeführt und entspricht den bei der elektrophoretischen Serumtrennung gefundenen Globulinfraktionen.

Das Albumin zeichnet sich durch sein großes Bindungsvermögen für Wasser aus. Infolge ihrer geringen Asymmetrie und ihrer hohen negativen Ladung vermögen sich die Albuminteilchen mit einem Wassermantel zu umgeben. Diese Eigenschaft befähigt sie zur Aufrechterhaltung des Blutvolumens. Das Albumin bindet außerdem zahlreiche andere Stoffe mit hydrophilen Eigenschaften: Ionen von Fettsäuren, anorganische Ionen, saure und basische Farbstoffe, die Vitamine C und K, Gallenfarbstoffe, die Herzglykoside, Sulfonamide, Antibiotika u.a. Für jeden Stoff besitzt das Albumin eine maximale Bindungskapazität. Ist diese überschritten, so wird die überschüssige Menge der betreffenden Substanz an eine Globulinfraktion gebunden (EDSALL, 1947; BENNHOLD u. Mitarb., 1950; EWERBECK, 1957).

Die hohe negative Ladung der Moleküle verleiht dem Albumin eine erhebliche Stabilität. Deshalb ist die Albuminkonzentration von großer Bedeutung für den Ausfall der Labilitätsreaktionen. Eine Albuminverminderung führt in jedem Fall zur Verringerung der Stabilität des Serums, und zwar auch dann, wenn die Globulinfraktionen in normaler Menge vorliegen (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952). Trotz des einheitlichen Molekulargewichts ist das Albumin nicht homogen. Durch fraktionierte Aussalzung lassen sich drei Albuminkomponenten isolieren (HEWITT, 1936). Dagegen wandert das Albumin im elektrischen Feld als einheitliche Fraktion.

Von den Globulinen sind die α - und ß-Globuline in chemischer Hinsicht besonders heterogen zusammengesetzt. Sie enthalten neben verschiedenen Proteinen auch Glyko-, Muco- und Lipoproteide. Zu den Eiweißkörpern der ß-Fraktion gehört der Gerinnungsfaktor Prothrombin (EDSALL, 1947; SCHULER, 1957). Von den Glyko- und Mucoproteiden können Kohlehydrate gebunden und im Plasma transportiert werden. Die Lipoproteide vermögen Substanzen mit lipophilen Eigenschaften zu binden und stellen somit die Lipoidträger des Blutplasmas dar (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952). Auch die

fettlöslichen Vitamine und Hormone lassen sich in den α - und ß-Globulinen nachweisen (EDSALL, 1947). Außerdem besitzen die α - und ß-Globuline metallbindende Eigenschaften. So wird Kupfer hauptsächlich von einer α -Komponente, Eisen von einem ß-Globulin transportiert (EWERBECK, 1957).

Die Bindungsfähigkeit des γ-Globulins für organische und anorganische Substanzen ist gering. Diese Eiweißfraktion enthält jedoch nahezu alle Immunglobuline. Vermehrte Antikörperbildung infolge einer Infektion führt deshalb zu einer Erhöhung des γ-Globulinanteils am Serumgesamteiweiß. Bei einigen Infektionen ist der Anstieg der γ-Fraktion allerdings sehr groß und steht in keinem Verhältnis zu den durch serologische Methoden bestimmbaren spezifischen Antikörpern. Diese Tatsache spricht dafür, daß das γ-Globulin nicht ausschließlich aus Immunglobulinen besteht (SCHULER, 1957). Ein großer Teil der γ-Fraktion scheint sich aus einem Gemisch von Proteinen zusammenzusetzen, die GUTMAN (1948) als unspezifische Antikörper bezeichnet.

Das Fibrinogen gehört zur Gruppe der gerüstbildenden Proteine. Die fadenförmigen Fibrinogenmoleküle bilden im Blutplasma ein submikroskopisches Netzwerk, indem sie sich untereinander lose verbinden. Dieses Netzwerk, das in seinen Maschen die übrigen Plasmabestandteile enthält, verleiht dem Blutplasma gegenüber dem Serum eine höhere Viskosität. Bei der Blutgerinnung geht das lösliche Fibrinogen in das unlösliche Fibrin über. Diese Umformung geht ohne wesentliche Veränderungen in der intramolekularen Struktur vor sich. Dagegen erlangen nach außen gerichtete Gruppen der Fibrinogenmoleküle eine vermehrte Reaktionsfähigkeit, die dazu führt, daß sich die Fibrinogenteilchen zu verschieden langen Peptidketten irreversibel verbinden. Die Umwandlung des Fibrinogens in Fibrin ist deshalb als Polymerisation aufzufassen (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952).

Über die Genese der Plasmaeiweißkörper besteht noch keine völlige Klarheit. Die Erforschung der Proteinsynthese ist

dadurch erschwert, daß zwischen Gewebseiweiß und Plasmaeiweiß ein ständiger Austausch stattfindet und alle Organe am Eiweißstoffwechsel beteiligt sind.

Als gesichert gilt, daß Albumin und Fibrinogen vor allem in der Leber gebildet werden. Bei Lebererkrankungen und experimentellen Leberschäden kommt es zur Verminderung beider Fraktionen. Weitgehend ungeklärt ist dagegen die Entstehung der Globuline. Fest steht, daß der Hauptteil der Globuline nicht in der Leber synthetisiert wird. Klinische Beobachtungen und die Ergebnisse zahlreicher immunbiologischer und klinisch-chemischer Untersuchungen sprechen dafür, daß bei der Bildung der Globuline sowohl intra- und extrahepatische Abschnitte des reticuloendothelialen Systems als auch Plasmazellen, Makrophagen und Lymphozyten eine Rolle spielen (EWERBECK, 1957).

3. Die elektrophoretische Analyse der Serumproteine

A. Die Methodik der Elektrophorese

a) Grundlagen

Unter dem Einfluß eines elektrischen Feldes bewegen sich in einer Lösung die gelösten Teilchen zu den Elektroden hin. Dieser Vorgang wird als Elektrophorese bezeichnet. Die Wanderungsgeschwindigkeit ist abhängig von der Stärke des elektrischen Feldes, von der Größe der gelösten Partikel und von deren Ladung. Die unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeit ermöglicht die räumliche Trennung von in Lösung befindlichen Stoffgemischen in die einzelnen Komponenten (ANTWEILER, 1957).

Auch die einzelnen Fraktionen des Serumproteins wandern gemäß ihrer unterschiedlichen Ladungen im elektrischen Feld mit verschiedener Geschwindigkeit. Deshalb ist die Elektrophorese ein geeignetes Verfahren zur quantitativen Untersuchung der Serumeiweißkörper. Die Wanderung der Eiweißkörper ist allerdings abhängig von der Wasserstoffionenkonzentration der Lösung. Die Proteine wirken als Puffer und verhalten sich in saurem Milieu wie Basen,

im alkalischen Milieu wie Säuren. Diese Eigenschaft der Proteine ergibt sich daraus, daß sie sowohl positive als auch negative Ladungen tragen (Zwitterionen). Im isoelektrischen Punkt sind die positive und die negative Ladung eines Eiweißkörpers gleich groß und heben sich gegenseitig auf. Es findet also keine Wanderung von Proteinteilchen unter dem Einfluß eines elektrischen Feldes statt, wenn die Wasserstoffionenkonzentration der Lösung dem isoelektrischen Punkt des gelösten Proteins entspricht. Liegt aber der p_H-Wert der Lösung auf der alkalischen Seite des isoelektrischen Punktes, so sind die Proteinteilchen negativ geladen und wandern als Anionen zur Anode. Befindet sich der p_H-Wert der Lösung auf der sauren Seite, so wandern die Eiweißteilchen, die jetzt positiv geladen sind, als Kationen zur Kathode. Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit, die Elektrophorese bei einem genau definierten und über die ganze Versuchsdauer konstanten p_H-Wert durchzuführen. Diese Bedingung wird durch den Zusatz eines Puffersystems zur Eiweißlösung erfüllt. Die isoelektrischen Punkte der einzelnen Serumeiweiß-Fraktionen liegen im Bereich von p_H 4,6 bis 6,4. Um zu erreichen, daß bei der Eiweißelektrophorese alle Fraktionen in die gleiche Richtung wandern, muß der p_H-Wert der Lösung außerhalb des genannten Bereiches liegen. Für die Praxis der Elektrophorese hat es sich als günstig erwiesen, den p_H-Wert so einzustellen, daß sich alle Serumproteine auf der alkalischen Seite ihrer isoelektrischen Punkte befinden. Sie wandern dann entsprechend ihrer negativen Ladung zur Anode (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952). Zu beachten ist, daß die Ionenstärke des Puffers einen wesentlichen Einfluß auf die Trennung der Proteine hat. Die Wanderungsgeschwindigkeit der Eiweißteilchen innerhalb der Pufferlösung nimmt mit steigender Ionenstärke ab. Bei Verwendung eines Puffers mit zu geringer Ionenstärke erhält man langgezogene Eiweißfronten, die nur undeutlich voneinander abgesetzt sind. Dagegen kann durch eine Pufferlösung größerer Ionenstärke eine schärfere Abgrenzung der Fraktionen erreicht werden (BÜCHNER, 1958).

b) Die elektrophoretischen Verfahren

Für die elektrophoretische Analyse der Bluteiweißkörper wurden zahlreiche Verfahren entwickelt. Grundsätzliche Unterschiede bestehen jedoch nur zwischen den Methoden der freien Elektrophorese und denen der Papierelektrophorese.

Freie Elektrophorese: Bei der freien Elektrophorese, die zuerst von TISELIUS (1937) beschrieben wurde, erfolgt die Fraktionierung in einem U-Rohr, in dem verdünnte Eiweißlösung in beiden Schenkeln mit Pufferlösung überschichtet wird. Die Pufferflüssigkeit steht in einem Schenkel des U-Rohrs mit der Anode, im anderen Schenkel mit der Kathode in Verbindung. Schließt man die Elektroden an eine Gleichstromquelle an, so wandern die Proteine im Anodenschenkel in die Pufferlösung, die Eiweißkörper im Kathodenschenkel dagegen in die mit Puffer verdünnte Proteinlösung. Für die Durchführung der freien Elektrophorese ist es erforderlich, das Serum zunächst gegen den verwendeten Puffer zu dialysieren, da bei der quantitativen Elektrophorese einer Eiweißlösung außer den Protein-Ionen nur die Ionen des Puffers zugegen sein sollen. Nach der Dialyse wird das Serum durch Verdünnen mit Pufferlösung auf einen Gesamtproteingehalt von 1 bis 2 g % eingestellt (ANTWEILER, 1952; WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952).

Soll eine analytisch ausreichende Trennung erreicht werden, so müssen an die Elektrophoreseapparatur gewisse Anforderungen gestellt werden. Das Trennrohr soll so konstruiert sein, daß es ein glattes, wirbelloses Überschichten der Eiweißlösung mit Pufferlösung ermöglicht. Da nicht zu vermeiden ist, daß an den Elektroden während des Trennvorganges Elektrolyseprodukte entstehen bzw. Konzentrationsveränderungen auftreten, muß das Trennsystem so gebaut sein, daß diese Konzentrationsverschiebungen das Meßgebiet der wandernden Eiweißfronten nicht erreichen. Diese Bedingung kann dadurch erfüllt werden, daß die Entfernung zwischen Meßraum und Elektroden groß gehalten wird. Außerdem muß die Apparatur so beschaffen sein, daß bei

hohem Spannungsgefälle gearbeitet werden kann, was für die Ausbildung klarer Eiweißfronten erforderlich ist. Je größer das Spannungsgefälle und die damit verbundene Stromstärke ist, umso mehr Wärme entsteht im Trennrohr. Die Wärme ist im Zentrum des Trennrohrquerschnitts am größten. Es besteht also ein Temperaturgefälle in der Lösung zur Trennrohrwandung hin, das zu Dichteunterschieden führen kann. Bei hohem Spannungsgefälle sind diese Unterschiede erheblich, es kommt zu einer Konvektionsströmung, die die wandernden Fronten durcheinander wirbelt. Um auch bei höherem Spannungsgefälle größere Dichteunterschiede vermeiden zu können, soll das Trennrohr mit einer Kühleinrichtung versehen sein. Es kann so bei einer Temperatur gearbeitet werden, die etwas unterhalb der des Dichtemaximums der Lösung liegt. Das Temperaturgefälle bedingt dann einen geringeren Dichteunterschied (ANTWEILER, 1957).

Je nach der Menge des für den Versuch benötigten Serums wird bei der freien Elektrophorese zwischen Makro-, Halbmikro- und Mikroverfahren unterschieden. Man braucht für die Makroelektrophorese etwa 5 ml, für die Halbmikromethoden etwa 1 ml und für die Mikroelektrophorese 0,1 ml Serum.

Wenn auch die Trennung bei diesen Methoden in allen Fällen nach dem gleichen Prinzip erfolgt, so bestehen doch zwischen Makro- und Mikroelektrophorese Unterschiede in Bezug auf die Messung der Eiweißkonzentrationen. Die quantitative Bestimmung der einzelnen Eiweißfraktionen geschieht bei allen Trennrohrverfahren durch Messung deren optischer Dichten. Die optische Dichte einer Proteinlösung ist von deren Konzentration abhängig. Sie kann deshalb als Maß für die vorliegende Eiweißkonzentration verwendet werden.

Bei den Makroverfahren wird die optische Dichte durch Bestimmung des optischen Dichtegradienten auf der Grundlage der TOEPLER-schen Schlierenmethode gemessen. Das Prinzip dieser Messungen beruht darauf, daß ein Lichtstrahl,

der zwei aneinandergrenzende Medien unterschiedlicher optischer Dichten passiert, an deren Grenzfläche in Richtung auf das dichtere Medium hin abgelenkt wird. Die Ablenkung ist dem Dichtegradienten proportional. Wird der Verlauf des Dichtegradienten über die Proteinwanderungsstrecke gemessen, so ergibt sich aus der Integration der Gradientenkurve die Dichteverteilung und damit die Verteilung der Konzentrationen über den Meßraum (ANTWEILER, 1957)

Für die Mikroelektrophorese ist die Bestimmung der optischen Dichtegradienten durch ein schlierenoptisches Meßprinzip wegen der geringen Schichtdicke des Meßraums eine zu unempfindliche Methode. Die Entwicklung von Mikroverfahren war erst durch Anwendung der Interferometrie für die Bestimmung der optischen Dichten möglich. Die Empfindlichkeit dieser Verfahren übersteigt die der Schlierenmethoden um ein Vielfaches. Besonders empfindlich ist die Meßtechnik nach ANTWEILER (1957). Der geringste nachweisbare Konzentrationsunterschied einer Proteinlösung beträgt hier 0,001 %. Zur Messung nach ANTWEILER wird ein weißer Lichtstrahl an einer Jaminplatte in zwei kohärente Strahlen aufgespalten. Während mit dem einen der Strahlen der Meßraum in Abständen von 0,1 mm abgetastet wird, durchläuft der andere einen Vergleichskanal. Eine zweite bewegliche Jaminplatte vereinigt die beiden Strahlen wieder. Durch Konzentrationsunterschiede im Meßraum entstehende Phasenverschiebungen der Lichtstrahlen werden durch Drehung der zweiten Jaminplatte kompensiert. Die zur Kompensation erforderliche Drehung dient als Maß für die jeweils vorliegende Proteinkonzentration.

Papierelektrophorese

Während bei den Trennrohrverfahren die Fraktionierung von Proteinen frei in einer Lösung vor sich geht, ist bei der Papierelektrophorese (PE) die Wanderung der Eiweißkörper an ein poröses Medium, das Filterpapier gebunden. Nachdem WIELAND und FISCHER (1948) sowie HAUGARD und KRONER (1948) Aminosäuren in einem mit Pufferlösung getränkten Filterstreifen wandern ließen, wurde diese neue

Technik von CREMER und TISELIUS (1950), DURRUM (1950), TURBA und ENENKEL (1950) sowie von GRASSMANN und HANNIG (1951) auch zur Trennung von Proteinen angewandt. Es ergab sich, daß die Serumproteine in alkalischer Lösung auf Grund ihrer verschieden starken negativen Ladung auch im Filterpapier unter dem Einfluß eines elektrischen Feldes mit unterschiedlicher Geschwindigkeit wandern und somit nach einer bestimmten Trennzeit quantitativ erfaßt werden können.

Die klinische Bedeutung der elektrophoretischen Serumanalyse war schon bei der Untersuchung pathologischer Seren mit Makroverfahren erkannt worden. Wegen des grossen Arbeitsaufwandes und wegen der Kostspieligkeit der Apparaturen blieben solche Bestimmungen jedoch auf wenige Institute und Kliniken beschränkt und galten in erster Linie der Eiweißforschung. Erst durch die Einführung der Papierelektrophorese wurde die breite Anwendung der elektrophoretischen Serumanalyse als diagnostisches Hilfsmittel und zur Überwachung des Krankheitsverlaufs in der humanmedizinischen Klinik möglich. Gegenüber der freien Elektrophorese weist die PE eine Reihe von Vorteilen, aber auch Nachteile auf, die später noch besprochen werden sollen. Zunächst soll jedoch auf die Technik der PE eingegangen werden.

Für die papierelektrophoretische Trennung der Serumproteine wurden zahlreiche Apparaturen entwickelt, die sich jedoch nur unwesentlich voneinander unterscheiden. Differenzen bestehen hinsichtlich der Befestigung des puffergetränkten Filterpapierstreifens während des Trennvorganges. Der Streifen wird entweder waagerecht zwischen zwei Kunststoffrahmen eingespannt (WIELAND u. FISCHER, 1948; CREMER u. TISELIUS, 1950; TURBA u. ENENKEL, 1950; GRASSMANN u. HANNIG, 1951) oder dachförmig über einen Kunststoffsteg aufgehängt (DURRUM, 1950; WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952). Die Enden des Streifens hängen in mit Pufferlösung gefüllte Elektrodenkammern hinein. Da auch bei der PE an den Elektroden Konzentrationsverschiebungen

auftreten, ist es notwendig, diese Kammern zu unterteilen. Im äußeren Teil befinden sich dann die Elektroden, während die inneren Kammerabteilungen zur Aufnahme der Streifenenden dienen. Eine geeignete Verbindung zwischen beiden Kammerteilen, z.B. eine mit Glaswolle leicht verschlossene Durchbohrung der Trennwand, ermöglicht, daß der Strom vom äußeren in den inneren Kammerteil fließen kann. Dagegen wird eine Flüssigkeitsströmung weitgehend eingeschränkt. Durch diese Anordnung können Veränderungen des p_H-Wertes im inneren Kammerteil und damit auch am Papierstreifen verhindert werden (GRASSMANN u. HANNIG, 1952; BÜCHNER, 1958). Bei Stromdurchgang entsteht im Filterpapierstreifen Wärme. Um während des Trennvorgangs eine Verdunstung der Pufferlösung im Streifen zu vermeiden, ist es erforderlich, die Apparatur mit einer Haube aus Kunststoff oder Glas luftdicht abzuschließen. Schon bald nach der Stromeinschaltung tritt dann innerhalb der Haube eine Feuchtigkeitssättigung ein. Man erreicht damit den Effekt einer feuchten Kammer (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952).

Für den Routinebetrieb wurden PE-Apparaturen geschaffen, die die gleichzeitige Untersuchung mehrerer Seren gestatten. Wenn ein geeignetes Stromversorgungsgerät zur Verfügung steht, an das mehrere Trennkammern zugleich angeschlossen werden können, können praktisch beliebig viele Serumeiweißanalysen auf einmal durchgeführt werden.

Von großer Bedeutung für eine gute papierelektrophoretische Proteinauftrennung ist die Beschaffenheit des verwendeten Filterpapiers. An das Papier wird die Anforderung gestellt, daß es die Eiweißkörper praktisch nicht adsorbiert (ANTWEILER, 1957). Die Eiweißadsorption betrifft in erster Linie die Albuminfraktion, die die längste Wanderungsstrecke zurücklegt. Es besteht die Gefahr, daß bei Verwendung von ungeeignetem Papier die Albuminfraktion nur ungenügend erfaßt wird, während die Globuline, insbesondere die γ-Globulinwerte, zu hoch erscheinen. Deshalb können bei der PE nur besondere Filterpapiere verwendet werden. Auch bei den für die Elektrophorese gebräuchlichen Spezialfilterpapieren konnte jedoch

eine Adsorption von Eiweiß, in erster Linie von Albumin nachgewiesen werden (PIEPER, 1959). Um die durch Adsorption entstehenden Fehler vermeiden zu können, wurden andere Substanzen, z.B. Gelatine, Baumwolle, Seide und Kunstfasergewebe auf ihre Eignung als Trägermedium für die elektrophoretische Serumeiweißtrennung geprüft. Besonders gering ist die Albuminadsorption bei Verwendung von Membronfolien. Dieses Trägermedium hat jedoch lipophile Eigenschaften, die eine Adsorption der lipoidhaltigen ß-Globuline und damit bei der Auswertung zu niedrige Werte für diese Fraktion bedingen (PIEPER, 1961).

Für die PE werden die gleichen Pufferlösungen benutzt, die auch bei der freien Elektrophorese angewandt werden. Auf humanmedizinischem Gebiet sind vor allem Pufferlösungen mit einem p_H von 8,6 und einer Ionenstärke von 0,1 gebräuchlich. Nach Angaben in der Literatur erwiesen sich solche Puffer als optimal für die Elektrophorese von Humanserum. Bei Rinderserum wird die Auftrennung besser, wenn eine Pufferlösung mit niedrigerem p_H-Wert verwendet wird (HARTUNG, 1954).

Es empfiehlt sich, für die PE nicht zu geringe Mengen Pufferlösung zu verwenden. Durch die Verdunstung, die auch bei luftdicht abgeschlossener Trennkammer zumindest zu Beginn der Proteinwanderung bis zur Feuchtigkeitssättigung der Kammeratmosphäre in gewissem Umfang auftritt, können bei Verwendung zu kleiner Puffermengen merkliche Konzentrationsverschiebungen entstehen.

Die für eine ausreichende Trennung der Fraktionen erforderliche Versuchsdauer ist abhängig von der angelegten elektrischen Spannung. Bei niedrigen Spannungen wandern die Proteine langsam. So ist z.B. bei einer Spannung von 110 V eine Trennzeit von 10 bis 14 Stunden erforderlich. Will man die Auftrennung in kürzerer Zeit erreichen, so muß mit höherer Spannung (260 bis 300 V) gearbeitet werden. Es hat sich als günstig erwiesen, weder zu hohe noch zu niedrige Spannungen zu verwenden. Zu niedrige Spannungen verursachen breite, flach verlaufende Fronten, die

nicht scharf voneinander abgesetzt sind, was für die Auswertung nachteilig ist. Bei Erhöhung der Spannung ist die Beschleunigung der schnell wandernden Fronten geringer als die der langsam wandernden. Wenn eine zu hohe Spannung angelegt wird, dann wandern die Eiweißfraktionen zwar als scharf begrenzte Fronten, die aber so dicht aneinander liegen können, daß sie kaum zu unterscheiden sind. (HARTUNG, 1954; BÜCHNER, 1958). Bei hoher Spannung ist außerdem die durch den Stromdurchgang im Papier entstehende Wärme so groß, daß es auch in feuchtigkeitsgesättigter Atmosphäre zu einer erheblichen Verdunstung kommen kann. Um die Verdunstung auch bei hoher Spannung zu verhindern, wurde der Filterpapierstreifen während des Trennvorganges von CREMER und TISELIUS (1950) zwischen Glasplatten eingelegt und in ein Chlorbenzolbad versenkt.

Es wurde vorgeschlagen, auch bei Anwendung niedrigerer Spannungen die PE in einem gekühlten Raum durchzuführen, um die auch bei geringerem Stromdurchgang im Streifen entstehende Verdunstung auf ein Mindestmaß zu beschränken (GRASSMANN u. Mitarb., 1951). Vergleichende Untersuchungen bei Zimmertemperatur und in einem Kühlraum ergaben jedoch, daß das Arbeiten bei niedrigeren Temperaturen praktisch keinen Vorteil bringt (HARTUNG, 1954). Die Verdunstung ist bei niedriger Temperatur zu Beginn der Trennung sogar höher als bei Zimmertemperatur, später ist es umgekehrt. Wenn die PE bei einer Stromstärke von 0,25 mA./cm durchgeführt wird, so ist nach einer Laufzeit von 10 Stunden bei 6° C ebensoviel Wasser verdunstet wie bei Zimmertemperatur (SLOTTA u. Mitarb., 1954).

Für die papierelektrophoretische Proteintrennung ist es nicht erforderlich, das Serum vorher zu verdünnen. Da nur sehr geringe Serummengen (ca. 0,01 ml) für die Analyse benötigt werden, kann auf die Dialyse verzichtet werden. Das Serum wird auf Filterpapierstreifen von 3 bis 4 cm Breite und etwa 40 cm Länge an einer zuvor markierten Stelle strichförmig und möglichst gleichmäßig quer zur Wanderungsrichtung aufgetragen. Dabei muß darauf geachtet werden, daß das Papier nicht aufgerauht wird. Es

ist auch möglich, das Serum aufzutropfen. Man erhält dann jedoch bei der Auftrennung Fronten, die senkrecht zur Wanderungsrichtung Konzentrationsunterschiede aufweisen, wodurch die Auswertung ungenau wird, sofern das Meßverfahren von der Konzentrationsverteilung abhängig ist (ANTWEILER, 1957). Es muß darauf geachtet werden, daß das Serum mindestens 1 cm von den Kanten des Streifens aufgetragen wird, da sonst ebenfalls keine gleichmäßigen Fronten entstehen. Außerdem ist es nicht gleichgültig, in welcher Höhe des Streifens das Serum aufgetragen wird. Befindet sich die Auftragestelle nach dem Einlegen in die Trennkammer in zu großer Nähe der Anode, so kann das dazu führen, daß keine oder sogar eine rückläufige Wanderung stattfindet. Andererseits kann es zu einer Beschleunigung der Proteinwanderung kommen, wenn die Startlinie zu dicht bei der Kathode gelegen ist. Ursache für diese Erscheinungen ist der Sog, der bei der Papierelektrophorese dadurch entsteht, daß vom nur schwach feuchten Papier aus den Puffergefäßen Flüssigkeit angesaugt wird. Durch die Flüssigkeitsbewegung wird das Serum mit verschoben. Der Sogeffekt wirkt sich umso stärker aus, je größer die für die Auftrennung verwendete Stromstärke und die daraus resultierende Verdunstung ist (SLOTTA u. Mitarb., 1954). Um die Sogwirkung weitgehend auszuschalten, empfiehlt es sich, das Serum so aufzutragen, daß sich die gesamte Wanderungsstrekke nach Abschluß der Trennung in gleicher Entfernung von Anode und Kathode befindet.

Die Befeuchtung des Streifens mit Pufferlösung kann vor oder nach dem Auftragen des Serums erfolgen. Es ist wichtig, daß der Streifen gleichmäßig durchtränkt wird. Wird das Serum auf den noch trockenen Streifen gebracht, so muß die Befeuchtung unmittelbar im Anschluß daran vorgenommen werden, da das Serum sonst antrocknet. Geschieht die Auftragung nach der Durchtränkung mit Pufferlösung, dann ist es technisch nur schwer realisierbar, das Serum über die Startlinie gleichmäßig zu verteilen, ohne das Papier dabei aufzurauhen. Ein Aufrauhen würde jedoch zu einer erheblichen Haftung von Eiweiß an der Auftragestelle führen. Die für die Elektrophorese vorbereiteten

Streifen müssen gerade in die Kammer eingelegt werden, d.h. die Längsachsen der Streifen müssen in der Stromrichtung liegen. Nur so ist gewährleistet, daß die Eiweißfronten über die gesamte Wanderungsstrecke in gleicher Entfernung von den Kanten der Filterpapierstreifen bleiben.

Der Trennvorgang wird durch Einschalten des Stromes eingeleitet, sobald die mit den Streifen beschickte Elektrophoresekammer luftdicht abgeschlossen ist.

Ist die elektrophoretische Trennung abgeschlossen, so werden die Streifen aus der Kammer herausgenommen und getrocknet. Die Trocknung der Filterpapierstreifen erfolgt bei ca. 105° C. Zu diesem Zweck werden die Streifen in einen Trockenschrank eingehängt. Es ist ratsam, die Streifen in waagerechter Lage bei Zimmertemperatur vorzutrocknen oder vor der Trocknung zwischen Filterpapierbogen zu legen, um einen Teil der Pufferlösung zu entfernen. Es kann sonst zu Beginn des Trockenschrankaufenthaltes durch Flüssigkeitsströmungen zum Verlaufen der Fraktionen kommen (GRASSMANN u. HANNIG, 1954).

Um die Eiweißfraktionen auf dem Filterpapier erfassen zu können, müssen sie durch Färbung sichtbar gemacht werden. Dazu sind vor allem folgende Farbstoffe gebräuchlich: Bromphenolblau (CREMER u. TISELIUS, 1950; DURRUM, 1950); Azocarmin (TURBA u. ENENKEL, 1950); Amidoschwarz 10B (GRASSMANN u. HANNIG, 1951) und Neucoccin (MICHL, 1952). Die Methodik ist im Prinzip für alle Farbstoffe gleich. Die getrockneten Elektrophoresestreifen kommen für 10 bis 20 Minuten in ein Färbebad, das aus einer Lösung des betreffenden Farbstoffes in Methanol-Eisessig besteht. Anschließend wird das angefärbte Papier in ein Bad aus Methanol-Eisessig bzw. Methanol-Äthanol (bei Bromphenolblau) gebracht. Durch diese Nachbehandlung wird der nicht an Protein gebundene Farbstoff aus dem Papier wieder entfernt, die Eiweißfraktionen bleiben dagegen gefärbt und sind nun deutlich erkennbar. In Abhängigkeit von der Dauer der Entfärbung des eiweißfreien Filterpapiers wird allerdings auch ein Teil des proteingebundenen Farbstoffes wieder ausgewaschen. Dieser Faktor kann jedoch bei

der Auswertung vernachlässigt werden, da die Relationen zwischen den an die einzelnen Fraktionen gebundenen Farbstoffmengen auch nach längerer Entfärbungszeit erhalten bleiben (EBERHARD, 1956; BÜCHNER, 1958).

Während bei der freien Elektrophorese die Konzentrationen der im Trennrohr gewanderten Proteinkomponenten direkt gemessen werden, bestimmt man bei den Auswertverfahren der Papierelektrophorese als Maß für die vorliegenden Eiweißmengen die Konzentrationen des an die Fraktionen gebundenen Farbstoffes, wobei von der Annahme ausgegangen wird, daß die Farbstoffbindung an Eiweiß proportional der Eiweißmenge erfolgt.-Auf die Problematik der quantitativen Proteinanfärbung soll später eingegangen werden. - Die Bestimmung der Farbstoffkonzentrationen kann auf zwei verschiedenen Wegen vorgenommen werden. Bei der einen Verfahrensart wird der Farbstoff aus den einzelnen Fraktionen eluiert und in einem Photometer gemessen. Die zweite Technik ermöglicht die direkte Messung des proteingebundenen Farbstoffes auf dem Filterpapierstreifen. Nach dem Verfahren von DURRUM (1950) sowie TURBA und ENENKEL (1950) wird der Streifen senkrecht zur Wanderungsrichtung derart zerschnitten, daß sich auf jedem Teil eine der Komponenten befindet. Aus jedem Abschnitt wird der Farbstoff getrennt eluiert und anschließend colorimetriert. Als Leerwert dient das Eluat eines farbstofffreien Filterpapierstückes. Da die Schnittführung den Formen der Fraktionen angepaßt werden kann, ist es bei dieser Technik von untergeordneter Bedeutung, ob die Eiweißfronten senkrecht zur Stromrichtung Konzentrationsunterschiede aufweisen (ANTWEILER, 1957). Das Verfahren führt allerdings nur dann zu exakten Ergebnissen, wenn die Fraktionen gut voneinander abgesetzt sind. Außerdem erhält man mit dieser Methodik nur die prozentualen Anteile der einzelnen Fraktionen am Gesamteiweiß, aber keinen Kurvenverlauf, der für die klinische Beurteilung der Serumeiweißverhältnisse häufig wichtig ist. Eine Arbeitsweise, die die Aufstellung eines Elektrophoresediagramms in Kurvenform gestattet, wurde von CREMER und TISELIUS (1950) beschrieben. Man zerschneidet den gefärbten Streifen in

2mm breite Teilabschnitte. Aus diesen wird der Farbstoff getrennt eluiert und im Photometer gemessen. Aus den Beziehungen der gefundenen Extinktionswerte zu den entsprechenden Wanderungsstrecken ergibt sich in einem Koordinatensystem ein Kurvenzug, der planimetrisch ausgewertet werden kann. Dieses Verfahren ist jedoch sehr zeitraubend und deshalb als Routinemethode ungeeignet. Einfacher und schneller erhält man die Extinktionswerte in Kurvenform durch direkte photometrische Auswertung des angefärbten Streifens. Zu diesem Zweck wird der Streifen, nachdem man ihn durch Einbetten in eine Flüssigkeit vom Brechungsindex der Papierfaser - nach GRASSMANN und Mitarbeitern (1951) eine Mischung aus α -Bromnaphtalin und Paraffinöl, nach PIEPER un MOLINSKI (1954) Anisol - transparent gemacht hat, zwischen Glasplatten gelegt und millimeterweise an einem von unten beleuchteten Spalt vorbeigeführt. Das durch den Streifen dringende Licht, welches in seiner Stärke je nach der Intensität der Anfärbung des Streifens wechselt, gelangt in eine Photozelle. In dieser wird das Licht in elektrischen Strom umgewandelt, der einem Meßgerät zugeführt wird. Die gemessenen Extinktionen werden als Funktion der Wegstrecke auf Millimeterpapier aufgetragen (GRASSMANN u. Mitarb., 1951).

Das direktphotometrische Auswertverfahren stellt wesentlich höhere Ansprüche an die Qualität der papierelektrophoretischen Trennung als die Eluiermethode. Bei der Direktmessung können nur dann exakte Ergebnisse erzielt werden, wenn die Eiweißfronten auf dem Papier senkrecht zur Wanderungsrichtung keinen Konzentrationsabfall aufweisen. Ist das Protein und damit auch der Farbstoff über die Streifenbreite unterschiedlich verteilt, so können bei der Auswertung der vorliegenden Farbstoffkonzentrationen zu geringe Extinktionen gemessen werden (GRASSMANN u. HANNIG, 1952; ANTWEILER, 1957).

Um die Erfassung der Proteinfraktionen auf dem Filterpapier weiter zu vereinfachen, wurden Auswertgeräte geschaffen, die die Extinktionswerte automatisch in Kurvenform aufzeichnen. Bei diesen Registrierphotometern werden die Streifen durch einen Motorantrieb kontinuierlich am

Lichtspalt vorbeigeführt. Die Registrierung erfolgt mit Hilfe eines Spiegelgalvanometers auf Photopapier oder aber durch ein Potentiometer, das mit einer Schreibfeder verbunden ist, direkt auf Millimeterpapier.

Das bei der Auswertung eines Elektrophoresestreifens erhaltene Diagramm setzt sich aus mehreren Teilkurven zusammen, die Gipfel Gaußscher Glockenkurven darstellen und den einzelnen Proteinkomponenten entsprechen. Unter der Voraussetzung, daß die Anfärbung der Proteine proportional der Eiweißmenge erfolgt, sind die Flächen unterhalb der Kurvenabschnitte den Eiweißfraktionen gleichzusetzen, während die Fläche unterhalb des gesamten Kurvenverlaufs der untersuchten Eiweißmenge entspricht. Die relative Verteilung der Serumeiweißfraktionen ergibt sich aus den prozentualen Anteilen der den Fraktionen zugehörenden Teilflächen an der Gesamtfläche. Zur Ermittlung der Teilflächen werden die Erhebungen des Kurvenverlaufs zu Gaußschen Kurven ergänzt. Die Begrenzung der Fraktionen erfolgt in den Schnittpunkten der extrapolierten Kurvenschenkel. Da bei der Interpretierung des Kurvenverlaufs ein gewisser Spielraum unvermeidbar ist, können bei der Einzeichnung der Gaußschen Kurven erhebliche Fehler entstehen (ANTWEILER, 1957). Ungenauigkeiten bei der Auswertung der Diagramme ergeben sich vor allem daraus, daß als Folge der Eiweißadsorption an das Filterpapier die aufsteigenden Kurvenschenkel nicht selten etwas steiler verlaufen als die absteigenden, so daß die in das Diagramm eingezeichneten Verteilungskurven etwas von der streng symmetrischen Form Gaußscher Glockenkurven abweichen. Vor allem bei der elektrophoretischen Untersuchung pathologischer Seren erhält man nur ausnahmsweise Diagramme, deren Teilkurven völlig symmetrisch ausgebildet sind (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952). Einige Untersucher verzichten deshalb auf das Einzeichnen Gaußscher Kurven und begrenzen die Fraktionen durch Fällung des Lotes in den tiefsten Punkten des Kurvenverlaufs. (TISELIUS u. KABAT, 1939; WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952) Dieses Verfahren ist jedoch nur dann anwendbar, wenn im Diagramm ausgeprägte Minima zu erkennen sind. Außerdem ist diese Methode wesentlich

ungenauer als das Einzeichnen von Verteilungskurven, da deren Schnittpunkte nur dann unter den Minima des Kurvenverlaufs liegen, wenn Fraktionen gleicher Konzentration aneinander grenzen. Die seitliche Verschiebung ist umso größer, je ungleicher die benachbarten Fraktionen sind (ANTWEILER, 1957).

Auch bei symmetrischer Ausbildung der Teilkurven liegt in der Extrapolation der Gaußkurven aus freier Hand eine erhebliche Fehlerquelle. Selbst bei Beachtung der Regel, daß durch die sich überschneidenden Kurvenschenkel über und unterhalb des Schnittpunktes gleichgroße Flächen entstehen müssen, bleibt es bis zu einem gewissen Grade dem Empfinden des Untersuchers überlassen, wie steil die auslaufenden Schenkel zu zeichnen sind. In der Literatur wurden rechnerische und graphische Verfahren beschrieben, die eine genauere Abgrenzung der Fraktionen ermöglichen sollen (WALLNER u. ULKE, 1952; KRÜGER-THIEMER u. REIF, 1956). Da bei diesen Verfahren die den Fraktionen entsprechenden Flächen direkt aus den Kurvengipfeln und den Scheitelhöhen des Diagramms ermittelt werden, ist das Vorhandensein ausgeprägter Maxima Voraussetzung für ihre Anwendbarkeit. Krankhaft veränderte Globulinfraktionen erscheinen im Papierelektrophoresediagramm jedoch häufig als flach verlaufende oder unregelmäßige Erhebungen. In solchen Fällen ist eine exakte Bestimmung der Scheitelpunkte nicht möglich. Deshalb ist bei klinischen Serumeiweißuntersuchungen mit den erwähnten Verfahren, die zudem zeitraubend sind, gegenüber der Unterteilung des Diagramms durch Einzeichnung Gaußscher Kurven praktisch keine größere Genauigkeit zu erzielen.

Die den Fraktionen entsprechenden Flächeninhalte können mit Hilfe eines Planimeters ermittelt werden. Wesentlich schneller werden die Flächenwerte erhalten, wenn zur Auswertung der Papierelektrophoresestreifen ein automatisches Auswertgerät verwendet wird, das gleichzeitig mit der Aufzeichnung des Diagramms das Flächenintegral unterhalb des Kurvenverlaufs registriert. Allerdings ergaben vergleichende Untersuchungen, daß der Meßfehler bei planimetri-

scher Auswertung etwas geringer ist als bei mechanischer Integration (PIEPER, 1961).

Die aus den Flächenverhältnissen errechneten Werte geben die prozentualen Anteile der einzelnen Fraktionen am Gesamteiweiß an (relative Prozentwerte). Bestimmt man gleichzeitig den Gesamteiweißwert, so ist es durch einfache Umrechnung möglich, auch die absolute Verteilung der Proteinfraktionen im Serum zu ermitteln (absolute Werte in g %).

Der klinische Wert der elektrophoretischen Serumeiweißanalyse ist in hohem Maße von der Vergleichbarkeit und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse abhängig. Methodische Verschiedenheiten können die Ergebnisse der Elektrophorese jedoch erheblich beeinflussen. Deshalb ist der Vergleich von Resultaten, die mit unterschiedlichen elektrophoretischen Trenn- und Auswertverfahren ermittelt wurden, nicht ohne weiteres möglich.

Bei der Gegenüberstellung von papierelektrophoretisch ermittelten Serumeiweißwerten mit Ergebnissen, die durch freie Elektrophorese erzielt wurden, ist zu beachten, daß sich die Lipoidkomponenten bei der Eiweißfärbung nicht mit anfärben (GRASSMANN u. HANNIG, 1952; EWERBECK, 1957). Der Vergleich papierelektrophoretisch bestimmter Werte mit solchen, die durch freie Elektrophorese erhalten wurden, ist auch dadurch erschwert, daß schon die mit verschiedenen Verfahren der freien Elektrophorese erzielten Resultate z.T. erheblich voneinander abweichen. So werden in der Literatur z.B. für das Albumin des Menschen mit Makroverfahren ermittelte Normalwerte zwischen 53 und 63 % angegeben. Nach EWERBECK (1957) sind durch freie Elektrophorese bestimmte Werte jedoch dann reproduzierbar, wenn sie unter absolut gleichen Versuchsbedingungen gewonnen wurden.

Werden die Normalwerte verglichen, die von verschiedenen Untersuchern durch PE ermittelt wurden, so ergeben sich besonders große Unterschiede. Die Literaturangaben über

den normalen Albuminwert beim Menschen schwanken hier zwischen 47 und 73 %. Diese Differenzen beruhen z.T. auf der unterschiedlichen Methodik der Eiweißtrennung auf dem Filterpapier. Die Ergebnisse verschiedener Untersucher weichen jedoch auch dann ab, wenn die Trennung unter absolut gleichen Bedingungen vorgenommen wurde. Daraus folgt, daß die ermittelten Werte in hohem Maße auch von der Technik der Färbung und Messung abhängig sind. Die Auswertverfahren der PE beruhen auf der Annahme, daß die Bindung von Farbstoffen an Eiweiß auf dem Filterpapier proportional der Eiweißmenge erfolgt. Untersuchungen mit isolierten Proteinfraktionen ergaben jedoch, daß die Albumine mehr Farbstoff binden als die Globuline (CREMER u. TISELIUS, 1950). Deshalb wurden von verschiedenen Autoren Korrekturfaktoren für die Globuline aufgestellt. Die Angaben über die unterschiedliche Farbstoffaffinität der einzelnen Eiweißfraktionen auf Filterpapier weichen jedoch auch dann, wenn sie den gleichen Farbstoff und die gleichen Färbe- und Auswertungsmethoden betreffen, erheblich voneinander ab, so daß die Anwendung der Korrekturwerte nicht zu einer Vergleichbarkeit der Ergebnisse der PE führte. Diese Diskrepanz ist darauf zurückzuführen, daß sich die Fraktionen nicht nur unterschiedlich anfärben, sondern daß die Anfärbung der Proteine auch von der Eiweißdichte auf dem Filterpapier abhängig ist. EBERHARD (1956) konnte nachweisen, daß die Extinktionen der Eluate von mit Amidoschwarz 10B gefärbten Proteinfraktionen umso höher ausfallen, je größer die Proteinkonzentrationen auf dem Filterpapier sind. Die Abhängigkeit der Anfärbung von der Proteinverteilung kann dadurch bewiesen werden, daß man bei Doppelbestimmungen erheblich voneinander abweichende Werte erhält, wenn die Trennung der einen Serumprobe auf einer deutlich kürzeren Wanderungsstrecke vorgenommen wird als bei der Kontrollprobe. Sollen den Eiweißkonzentrationen bzw. -mengen proportionale Werte erzielt werden, so ist deshalb die Eiweißdichte auf dem Filterpapier bei der Auswertung mit zu berücksichtigen, d.h. die gemessenen Werte müssen anhand von Eichkurven, die sich aus den für Eiweißmengen bekannter Konzentration gemessenen

Extinktionen ergeben, korrigiert werden. Für die Eichkurvenermittlung verteilt man steigende Proteinmengen auf gleich große Flächenabschnitte eines Filterpapierstreifens. Nach der Anfärbung werden die Extinktionen für die einzelnen Eiweißflecken bestimmt und in Abhängigkeit von den entsprechenden Eiweißkonzentrationen in ein Koordinatensystem eingetragen. Trocknungs-, Färbe- und Meßmethodik sowie Filterpapiersorte müssen für den Eichstreifen dieselben sein, die auch bei den elektrophoretischen Untersuchungen angewandt werden, da der Verlauf der Eichkurven auch von der Arbeitsweise abhängig ist (EBERHARD, 1956).

Auch bei der Berücksichtigung der Eichkurven können jedoch nur dann vergleichbare Werte erzielt werden, solange die gemessenen Extinktionen den Farbstoffkonzentrationen proportional sind. Für die Elutionsmethode ist diese Bedingung dann erfüllt, wenn die Farbstofflösungen für die Dauer der Untersuchungen stabil sind, d.h. die gelösten Farbstoffe dürfen ihre Farbstärke nicht verändern. Diese Voraussetzung ist bei der Mehrzahl der für die Proteinfärbung gebräuchlichen Farbstoffe gegeben. Untersuchungen mit Amidoschwarz 10B ergaben jedoch, daß dieser von vielen Autoren wegen seiner Farbintensität bevorzugte Farbstoff (GRASSMANN u. HANNIG, 1952) in alkalischem Milieu schon nach kurzer Zeit verblaßt. Da die Elution der Farbstoffe durch Natronlauge erfolgt, können durch die Inkonstanz der Lösungen erhebliche Fehler bei der Messung entstehen. In Gegenwart von nativem Serumeiweiß bleiben alkalische Amidoschwarzlösungen jedoch stabil, so daß durch Zugabe geringer Mengen von Serum im Eluat eine Zerstörung des Farbstoffes verhindert werden kann (GOLDHAMMER, 1955). Nach MONCKE (1956) kann für den Zeitraum von einer Stunde eine genügende Farbstabilität des Eluats auch durch Verzicht auf die Hitzefixation der getrennten Proteine erreicht werden.

Da die Albumine mehr Farbstoff binden als die Globuline und außerdem die Anfärbung mit steigender Eiweißdichte auf dem Filterpapier zunimmt, müßten bei der Auswertung

der angefärbten Proteinfraktionen stets zu hohe Albuminwerte erzielt werden. Dies trifft jedoch nur für die mit der Elutionsmethode erhaltenen Ergebnisse zu. Bei der direktphotometrischen Auswertung werden dagegen für das Albumin Werte gefunden, die mit den Resultaten der freien Elektrophorese weitgehend übereinstimmen (GRASSMANN u. HANNIG, 1952) bzw. etwas niedriger sind (PIEPER, 1959). Untersuchungen über die Grundlagen der direktphotometrischen Auswertung ergaben, daß dieses Verfahren nicht der Messung der Farbdichten homogener Lösungen gleichzusetzen ist. Mikroskopische Beobachtungen zeigten, daß der Farbstoff auf dem Filterpapier nicht gleichmäßig verteilt ist. Während sich die durch Fixation koagulierten Eiweißpartikel intensiv anfärben, bleiben die Zwischenräume farblos. Wird der angefärbte Streifen direkt photometrisch ausgewertet, so besteht das die Photozelle treffende Licht deshalb vorwiegend aus Strahlen, die die ungefärbten Zwischenräume passiert haben. Die intensiv angefärbten Partikel werden dagegen nur von einer geringen Anzahl von Strahlen durchdrungen. Damit handelt es sich bei der direktphotometrischen Messung nicht nur um eine Bestimmung von Farbstoffkonzentrationen, sondern vor allem um eine Bestimmung der Verteilung von gefärbten Eiweißpartikeln auf Filterpapier (EBERHARD, 1956). Daraus folgt, daß sich im Gegensatz zur Elutionsmethode bei der direktphotometrischen Auswertung die unterschiedliche Anfärbbarkeit der Serumeiweißfraktionen nur unwesentlich auf die Ergebnisse auswirkt, weil die Extinktionen bei der Direktphotometrie in erster Linie von der Verteilungsdichte der koagulierten Eiweißpartikel abhängig sind. Außerdem ergibt sich bei der Aufstellung von Eichkurven für dieses Verfahren eine andere Kurvencharakteristik als bei der Elutionsmethode, da der Kurvenverlauf hier vor allem aus den Gesetzmäßigkeiten der Eiweißkoagulation in Abhängigkeit von der Eiweißdichte auf dem Filterpapier und nicht, wie bei der Elutionsmethode, aus den Beziehungen zwischen Eiweißverteilung und Farbstoffbindungsvermögen resultiert. Eine wesentliche Fehlerquelle der direktphotometrischen Auswertung liegt in der Transparent-

machung der Filterpapierstreifen, da die Transparenz nur mangelhaft reproduzierbar ist. Eine völlige Durchsichtigkeit kann nur bei Verwendung von Membranfolien als Trägermaterial für die elektrophoretische Eiweißtrennung erreicht werden (PIEPER, 1959). Bei mangelhafter Lichtdurchlässigkeit des Filterpapiers werden für die Fraktionen hoher Konzentration zu niedrige und für die Komponenten geringer Konzentration zu hohe Werte gefunden. Der Fehler wird umso größer, je geringgradiger die Transparenz ist. Bei der direktphotometrischen Auswertung im Durchlicht am nicht transparenten Streifen ist der Meßfehler besonders groß. Als Ursache für diese Abweichungen ist die starke Streuung diffuser Art anzusehen, die die durchfallenden Lichtstrahlen am nicht transparenten Streifen erfahren (GRASSMANN u. HANNIG, 1954). Um auf die Transparentmachung trotzdem verzichten zu können, wurde vorgeschlagen, die Auswertung nicht mit durchfallendem, sondern mit reflektiertem Licht vorzunehmen (RÖTTGER, 1953). Auch bei der Messung mit reflektiertem Licht verschieben sich jedoch die Werte für die Fraktionen zugunsten der Komponenten geringer Konzentration, da ein bestimmter Grundanteil des reflektierten Lichtes von der lichtabsorbierenden Färbung unabhängig ist, so daß vergleichbare Werte nur erzielt werden können, wenn dieser Faktor bei der Auswertung berücksichtigt wird (GRÜTTNER, 1954).

Zusammenfassend ist zu sagen, daß bei der Auswertung der Papierelektrophoresestreifen zahlreiche Faktoren die Ergebnisse beeinflussen können. Die Korrektur der gemessenen Extinktionen anhand von Eichkurven gestattet jedoch die Angabe von Werten, die den vorliegenden Eiweißkonzentrationen weitgehend proportional sind. Bei Berücksichtigung der Eichkurven dürfte die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse gegeben und auch der Vergleich von solchen Resultaten, die mit unterschiedlichen papierelektrophoretischen Auswertverfahren erhalten wurden, weitgehend möglich sein.

B. Die Gesamteiweißbestimmung im Blutserum

Das Gesamteiweiß im Blutserum kann mit verschiedenen Methoden bestimmt werden, die sich sowohl hinsichtlich ihrer Grundlagen als auch in bezug auf die Analysengenauigkeit z.T. erheblich unterscheiden.

Als klassische Methode der Gesamteiweißbestimmung gilt das indirekte Verfahren, das auf der Eiweißstickstoffbestimmung nach KJELDAHL beruht. Bei diesem Verfahren werden stickstoffhaltige Substanzen durch Veraschung mit Schwefelsäure unter Mitwirkung von Katalysatoren (Kupfersulfat) in Ammoniak umgewandelt und von der Schwefelsäure als Ammoniumsulfat gebunden. Durch Laugenzusatz wird das Ammoniak freigesetzt und anschließend in ein Gefäß, das eine bekannte Menge Schwefelsäure enthält, überdestilliert. Die überschüssige Säure wird mit Natronlage titrimetrisch bestimmt. Aus der verbrauchten Natronlauge kann dann der Stickstoffgehalt der untersuchten Substanz errechnet werden (HALLMANN, 1958).

Unter der Voraussetzung, daß der Gehalt der Proteine an Aminosäuren konstant ist (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952), ergibt sich die Gesamteiweißkonzentration in g % durch Multiplikation des Eiweißstickstoffwertes mit dem Faktor 6,25. Der Eiweißstickstoff wird aus der Differenz zwischen Gesamtstickstoffgehalt und Reststickstoffgehalt des Serums berechnet. Als Reststickstoff wird der Stickstoff bezeichnet, der im enteiweißten Serum enthalten ist. Da bei der Enteiweißung von den einzelnen Fällungsmitteln auch andere stickstoffhaltige Substanzen (Albumosen, Peptone, Harnsäure u.a.) in unterschiedlicher Menge mitgerissen werden, erhält man mit diesem Verfahren keine absoluten, sondern von der Methodik der Eiweißfällung abhängige Werte. Um eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu ermöglichen, wurde die Enteiweißung des Serums mit Trichloressigsäure als Standardmethode vorgeschlagen (HALLMANN, 1958). Das KJELDAHL-Verfahren ist wegen des erforderlichen Zeitaufwands für Routineuntersuchungen nicht geeignet. Es dient heute in erster Linie als Ver-

gleichsverfahren, nach dessen Ergebnissen andere Gesamteiweißbestimmungsmethoden geeicht werden (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952; BERCHTOLD, 1957).

Für die serienmäßige Gesamteiweißbestimmung in klinischen Laboratorien werden heute vielfach colorimetrische Methoden angewandt. Sie beruhen im Prinzip darauf, daß in alkalischen Proteinlösungen bei Zugabe von Kupfersulfat komplexe Kupferverbindungen von rotvioletter Färbung entstehen (Biuretreaktion). Ursprünglich diente diese Farbreaktion nur zum qualitativen Nachweis von Proteinen, Biuret, Peptiden und anderen Stoffen, deren Moleküle mindestens drei Peptidbindungen (-CO-NH-) aufweisen (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952). Da die Intensität der Färbung dem Eiweißgehalt der Lösung entspricht, kann die Biuretreaktion jedoch auch zur quantitativen Eiweißbestimmung verwendet werden, indem man die Farbstärke in einem Colorimeter mißt und aus der abgelesenen Extinktion anhand einer Eichkurve die Eiweißkonzentration ermittelt. Dabei muß allerdings gewährleistet sein, daß Temperatur- und Zeiteinflüsse die Farbstärke für die Dauer der Bestimmung nicht verändern. Nach KONIAKOWSKY (1950) erhält man reproduzierbare und mit den durch das Verfahren nach KJELDAHL erzielten Werten vergleichbare Ergebnisse, wenn die Messung im Colorimeter unmittelbar im Anschluß an die Farbenentwicklung vorgenommen wird. Um die Zeit- und Temperatureinflüsse auf die Farbenentwicklung weitgehend auszuschalten, wurde vorgeschlagen, für die Farbreaktion ein Reagens zu verwenden, das neben Kupfersulfat und Natronlauge zur Stabilisierung der Lösung Kalium - Natrium-Tartrat und Kaliumjodid enthält (WEICHSELBAUM, 1946; FRANK u. KOECHER, 1950; WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952; BERCHTOLD, 1957). Die prozentuale Zusammensetzung des Reagens wird von den einzelnen Autoren unterschiedlich angegeben. Übereinstimmend wird jedoch berichtet, daß die Ergebnisse colorimetrischer Eiweißbestimmungen mit den Resultaten des KJELDAHL-Verfahrens vergleichbar sind. Abweichungen ergeben sich lediglich bei pathologischen Seren mit besonders hohem Eiweißgehalt oder erhöhtem Bilirubinspiegel (FRANK u. KOECHER, 1950;

KONIAKOWSKY, 1950).
Als weiteres Routineverfahren ist die refraktometrische Methode der Serumeiweißbestimmung zu nennen. Das Verfahren beruht darauf, daß der Brechungsindex einer Lösung von deren Konzentration abhängig ist. Der Brechungsindex des Serums stellt deshalb ein Maß für den Eiweißgehalt desselben dar. Dabei muß allerdings vorausgesetzt werden, daß die neben dem Eiweiß im Serum enthaltenen weiteren Substanzen in konstanter Konzentration vorliegen. Vor allem kann eine Zunahme der Lipoide zu Fehlresultaten führen. Da der Brechungsindex einer Flüssigkeit auch temperaturabhängig ist, müssen die Messungen in einem Konstantwasserbad (20° C) vorgenommen werden. Anhand der erzielten Refraktionswerte lassen sich die Eiweißkonzentrationen aus Tabellen direkt ermitteln.

Wegen ihrer Einfachheit und des geringen Zeitaufwandes wird die refraktometrische Methode in der Humanmedizin in klinischen Laboratorien, besonders für orientierende Untersuchungen, vielfach angewandt (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952) und hat sich auch zur Gesamteiweißbestimmung beim Rind bewährt (CHOPARD, 1954).

Besonders schnell und auf technisch leicht durchführbare Weise lassen sich Gesamteiweißkonzentrationen im Serum mit der Kupfersulfatmethode bestimmen. Das Verfahren beruht darauf, daß das spezifische Gewicht des Serums in erster Linie vom Proteingehalt abhängig ist, so daß aus der Höhe des spezifischen Gewichtes auf die Konzentration geschlossen werden kann.

Da ein Körper in der Lösung schwebt, die das gleiche spezifische Gewicht hat wie er selbst, läßt sich das spezifische Gewicht sehr einfach dadurch bestimmen, daß man in verschieden konzentrierte Kupfersulfatlösungen mit bekannten spezifischen Gewichten je einen Tropfen Serum fallen läßt. Das spezifische Gewicht derjenigen Kupfersulfatkonzentration, bei der der Serumtropfen in der Schwebe bleibt, entspricht dem des Serums. Aus einer Tabelle kann abgelesen werden, welcher Eiweißgehalt im Serum dem ermittelten spezifischen Gewicht entspricht (PHILIPS u. Mitarb.,

1945). Ebenso wie bei dem refraktometrischen Verfahren können auch mit der Kupfersulfatmethode nur dann exakte Ergebnisse erzielt werden, wenn die Konzentration der neben den Proteinen im Serum enthaltenen weiteren Stoffe konstant ist. Unter dieser Voraussetzung genügt die Analysengenauigkeit der Kupfersulfatmethode den klinischen Anforderungen (HALLMANN, 1958).

C. Die diagnostische Bedeutung der elektrophoretischen Serumeiweißanalyse und der Gesamteiweißbestimmung

a) Allgemeines

Im gesunden Organismus werden die Serumeiweißverhältnisse in engen physiologischen Grenzen konstant gehalten (Euproteinämie). Bei krankhaften Zuständen kann das Bluteiweißbild mehr oder weniger verändert sein. Die Erfassung solcher Veränderungen durch Bestimmung der Konzentrationen von Gesamteiweiß und einzelnen Eiweißkomponenten stellt deshalb ein diagnostisches Hilfsmittel dar. Zu unterscheiden sind Konzentrationsverschiebungen zwischen den einzelnen Eiweißfraktionen (Dysproteinämien) und das Auftreten von normalerweise nicht im Blut enthaltenen Eiweißkörpern (Paraproteinämien). In der Regel gehen stärkere quantitative Verschiebungen gleichzeitig mit qualitativen Veränderungen einher. Die Gesamteiweißbestimmung im Serum kann auch beim Vorliegen von Dys- und Paraproteinämien durchaus normale Werte ergeben. Vielfach ist jedoch der Gesamteiweißspiegel zugleich erniedrigt (Hypoproteinämie) oder erhöht (Hyperproteinämie). Nur selten sind bei Veränderungen in der Zusammensetzung der Bluteiweißkörper alle Fraktionen in gleicher Weise betroffen. Hypoproteinämien beruhen fast ausschließlich auf einer Albuminverminderung. Die Erhöhung des Gesamteiweißwertes geht demgegenüber ausschließlich auf eine absolute Globulinvermehrung zurück, wobei die Albuminkonzentration in der Mehrzahl der Fälle sogar erniedrigt ist.

Demnach sind also Verschiebungen im Serumeiweißbild grundsätzlich durch Zunahme der Globuline bei entsprechender

Albuminverminderung gekennzeichnet. Das einseitig inverse Verhältnis zwischen Globulinen und Albuminen - eine absolute oder auch nur relative Albuminvermehrung wurde bisher nicht sicher nachgewiesen - führte zu der Annahme, daß die Zusammensetzung der Serumproteine von einem einseitig gebahnten zentralen Regulierungsmechanismus gesteuert wird, durch den es dem Organismus möglich ist, den kolloidosmotischen Druck im Blutplasma auch bei pathologischen Zuständen optimal zu erhalten (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952).

Als Ursache für die Veränderungen des Bluteiweißbildes kommen verschiedene Möglichkeiten in Betracht. Einerseits können pathologische Vorgänge in den eiweißbildenden Geweben zur mangelhaften Genese oder zur Fehlbildung von Proteinen führen. Andererseits kann die Bildung von Eiweißkörpern verstärkt sein, z.B. als Antwort auf infektiöse Reize. Bisher konnte nicht nachgewiesen werden, wie weit die Veränderungen der Serumeiweißfraktionen durch einen zentralen Regulationsmechanismus gesteuert werden oder ob sie Folge einer durch Erkrankung eines bestimmten Körpergewebes verursachten Störung des Eiweißstoffwechsels sind (SCHULER, 1957). So kann z.B. angenommen werden, daß die bei verschiedenen Hepatopathien bestehende Hypalbuminämie Folge gestörter Albumingenese im Lebergewebe ist. Die gleichzeitig nachzuweisende absolute Hyperglobulinämie, bedingt durch infektiöse Reize, kann aber auch sekundär die Erniedrigung der Albuminkonzentration bewirken.

Veränderungen im Serumeiweißbild sind nicht für einzelne Erkrankungsformen spezifisch. Die Zusammensetzung der Serumproteine kann bei erheblich voneinander verschiedenen pathologischen Prozessen völlig gleich sein. Doch lassen sich im Elektrophoresediagramm gesetzmäßige Beziehungen zu den einzelnen Krankheitsgruppen und -stadien erkennen. Akute pathologische Vorgänge sind durch ein anderes Verhältnis der Fraktionen zueinander gekennzeichnet als chronische. Auf Grund der Bestimmung der Serumeiweißfraktionen allein kann eine Diagnose jedoch nicht gestellt

werden. Die Elektrophorese hat nur dann diagnostischen Wert, wenn sie neben anderen Untersuchungen durchgeführt wird. Besondere Bedeutung kommt der Elektrophorese dadurch zu, daß die verschiedenen Stadien einer Erkrankung durch Verlaufsanalysen verfolgt werden können und somit auch prognostische Aussagen möglich sind. Diagnostische Merkmale ergeben sich nicht nur aus den quantitativen Relationen zwischen den einzelnen elektrophoretisch ermittelten Fraktionen, sondern auch die von der Norm abweichende Form einzelner Fraktionsgipfel im Elektrophoresediagramm kann Hinweise auf bestimmte Vorgänge geben. Wie bereits erwähnt, sind die elektrophoretisch ermittelten Serumeiweißfraktionen nicht als einheitliche Proteine anzusehen. Sie bestehen aus Gemischen verschiedener Eiweißkörper, die sich infolge ihrer gleichen elektrischen Ladung im elektrischen Feld mit der gleichen Geschwindigkeit bewegen. Die Heterogenität einzelner Fraktionen ist häufig an der Form der den Hauptfraktionen entsprechenden Gipfel im Elektrophoresediagramm erkennbar. Eine hohe spitze Zacke weist auf weitgehende Homogenität der betreffenden Fraktion hin, während ein breitbasiger, niedriger und abgerundeter Gipfel für Heterogenität spricht. Vielfach lassen sich die Hauptfraktionen als Ausdruck der Heterogenität an Hand des Diagramms in Unterfraktionen einteilen. Diagnostisch von Bedeutung ist besonders die Homogenität bzw. Heterogenität der γ-Globuline. Uneinheitliche γ-Globulin-Gipfel werden bei chronisch entzündlichen Prozessen gefunden, während weitgehend homogen erscheinende γ-Globulinfraktionen typisch für γ-Plasmacytome und Makroglobulinämien des Menschen sind (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952).

Auf die Problematik der Vergleichbarkeit von Ergebnissen der Elektrophorese ist bereits bei der Besprechung der elektrophoretischen Verfahren eingegangen worden. Da auch die Form der den Fraktionen entsprechenden Gipfel weitgehend von der angewandten Methodik abhängig ist, lassen sich auch hinsichtlich der Beurteilung der Homogenität bzw. Heterogenität der Fraktionen die Ergebnisse mehrerer Autoren nur bedingt vergleichen.

Die Vergleichbarkeit der Resultate verschiedener Untersucher ist auch dadurch eingeschränkt, daß sich die Unterfraktionen den Hauptfraktionen häufig nur schwer zuordnen lassen. So bleibt es dem Untersucher z.B. überlassen, welcher Fraktion eine im Grenzbereich zwischen ß- und γ-Globulin liegende Unterfraktion zuzurechnen ist. Ein Verfahren, das eine weitgehend objektive Bezeichnung der Fraktionen bzw. Unterfraktionen gestattet, wird von BOGUTH (1953) vorgeschlagen: man setzt die Entfernung zwischen den Symmetrieachsen des ersten und des letzten einer Proteinfraktion entsprechenden Diagrammgipfels gleich 100 und definiert die dazwischen liegenden Fraktionen als Prozentwerte dieser Strecke.

Besondere Schwierigkeiten hinsichtlich der Unterteilung des Diagramms ergeben sich bei der papierelektrophoretischen Analyse von Blutplasma. Wegen der großen Affinität des Fibrinogens zur Zellulosefaser ist die Beweglichkeit dieser Proteinfraktion, die bei der Trennung im U-Rohr zwischen ß- und γ-Globulin wandert, auf dem Filterpapier eingeschränkt (DURRUM, 1950; WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952; ANTWEILER, 1957). Die Folge davon ist, daß sich die Fibrinogen- und γ-Globulinfraktion überlagern, so daß sie im Diagramm nicht als getrennte Kurvengipfel erscheinen. Durch parallel vorgenommene papierelektrophoretische Trennung von Serum und mit Heparin ungerinnbar gemachtem Plasma desselben Blutes kann die Fibrinogenkonzentration im Blutplasma jedoch ermittelt werden. Die Fibrinogenfraktion ergibt sich aus der Differenz der Flächenwerte der Serum- und Plasma-Elektrophoresediagramme (SCHLEIFFARTH u. Mitarb., 1956).

Die Analysengenauigkeit ist bei den verschiedenen elektrophoretischen Trennverfahren nicht gleich. Bedingt durch die zahlreichen Arbeitsgänge ist bei der Papierelektrophorese der rein methodische Fehler etwas größer als bei der freien Elektrophorese. ANTWEILER (1957) gibt für letztere eine mittlere Streuung von $\sigma = 0{,}3 - 0{,}5$ % und für die Papierelektrophorese eine solche von $\sigma = 1{,}2 - 1{,}5$ % an.

Den Nachteilen der Papierelektrophorese stehen jedoch im Vergleich zur freien Elektrophorese mehrere Vorteile gegenüber. So benötigt man zur Durchführung der Papierelektrophorese nur etwa 0,01 ml Serum bzw. 1 - 2 mg Eiweiß, wodurch die elektrophoretische Trennung auch dann möglich ist, wenn nur sehr kleine Serummengen zur Verfügung stehen oder Flüssigkeiten mit geringem Proteingehalt (z.B. Oedemflüssigkeit) untersucht werden sollen. Im Gegensatz zur freien Elektrophorese gelingt bei der Papierelektrophorese eine volle räumliche Trennung des vorliegenden Proteingemisches. Deshalb eignet sich diese Methode zur mikropräparativen Darstellung der Einzelproteine und zur Klärung der Vehikeleigenschaften der Serumeiweißkörper (ANTWEILER, 1957). Es ist möglich, papierelektrophoretisch isolierte Proteinfraktionen der zweidimensionalen Papierchromatographie zu unterziehen und auf diesem Wege die Aminosäurenbausteine der einzelnen Eiweißkomponenten zu analysieren (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952).

Ein weiterer Vorzug der Papierelektrophorese besteht darin, daß es mit geeigneten Apparaturen möglich ist, mehrere Proteinlösungen gleichzeitig zu analysieren. Dadurch kann bei Reihenuntersuchungen der Zeitaufwand wesentlich verringert werden.

Die Papierelektrophorese wird heute in der Humanmedizin in der klinischen Diagnostik routinemäßig angewandt. Bedeutung für die Erkennung und Beurteilung von Erkrankungen erhält sie jedoch nur in Verbindung mit dem klinischen Befund und den Resultaten anderer klinischer Laboruntersuchungen, da das Serumeiweißbild allein eine gesicherte Diagnose nicht zuläßt.

Auch in der Veterinärmedizin hat die Elektrophorese klinisches Interesse gefunden. Die im Verhältnis zu humanmedizinischen Untersuchungen relativ geringe Zahl der bisher bei kranken Tieren durchgeführten elektrophoretischen Serumeiweißbestimmungen erlaubt jedoch noch nicht die endgültige Beantwortung der Frage, ob die in der Humanmedizin gemachten Erfahrungen auch auf veterinärmedizinischem Gebiet Geltung haben.

b) Serumeiweißuntersuchungen beim Menschen

Der Anteil der einzelnen Fraktionen am Gesamteiweiß des Blutserums ist beim Menschen und bei den einzelnen Tierarten sehr verschieden. Im Serum des Menschen ist der Albumingehalt größer als im Rinderserum. Dementsprechend liegen die Werte für die Globuline beim Menschen niedriger als beim Rind. Das gilt insbesondere für die γ-Globuline.

Normalwerte des Menschen

EWERBECK (1957) gibt für den Menschen folgende mit der Antweilerapparatur ermittelten normalen Serumeiweißwerte an, die nicht im ersten Lebensjahr und nicht über das 70. Lebensjahr hinaus gültig sind:

Alb.	α-Glob.	ß-Glob.	γ-Glob.
63,2 %	9,0 %	13,7 %	14,1 %

WUNDERLY (1954) bestimmte papierelektrophoretisch folgende mittleren Normalwerte für das menschliche Serum:

Alb.	α-Glob.	ß-Glob.	γ-Glob.
61,6 %	11,2 %	10,7 %	16,5 %

Gesamteiweißwerte zwischen 6,5 und 8,0 % sind beim Menschen als normal zu betrachten, nur erhebliche Abweichungen sind klinisch zu bewerten (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952).

Die Serumeiweißverhältnisse bei Lebererkrankungen des Menschen

Fast jeder pathologische Prozess im Organismus beeinflußt die Eiweißkörper des Blutserums in irgendeiner Form. Da die Leber im Mittelpunkt des Eiweißstoffwechsels steht, sind bei Hepatopathien Verschiebungen im Bluteiweißbild besonders zu erwarten. Nur die großen Funktionsreserven der Leber bedingen, daß nicht bei jeder geringen Schädigung dieses Organs Störungen im Eiweißstoffwechsel auftreten.

Die Dysproteinämien, die bei krankhaften Zuständen bestehen, sind zwar nicht charakteristisch für jede einzelne Erkrankung und auch nicht organspezifisch, es bestehen jedoch gesetzmäßige Beziehungen zwischen bestimmten pathologischen Vorgängen und in gewissen Grenzen typischen Serumeiweißbildern.

Von WUHRMANN und WUNDERLY (1952) wurden die für verschiedene Krankheitsgruppen charakteristischen Veränderungen der Serumeiweißverhältnisse in neun sogenannte Reaktionskonstellationen (Konstellationstypen) zusammengefaßt. Dabei wurden nicht nur die elektrophoretischen Ergebnisse berücksichtigt, sondern auch die Resultate der verschiedenen Serumlabilitätsproben, der Senkungsreaktion und der Gesamteiweißbestimmung.

Zum Vergleich interessiert im Rahmen dieser Arbeit der Ausfall der elektrophoretischen Serumanalysen, der Gesamteiweißbestimmung und der TAKATA-Reaktion bei den Lebererkrankungen des Menschen. Drei der Konstellationstypen nach WUHRMANN und WUNDERLY betreffen in erster Linie die bei verschiedenen Hepatopathien auftretenden Veränderungen im Serumeiweißbild. Im Folgenden sind die für diese Erkrankungsformen typischen Abweichungen von der Norm aufgeführt, soweit sie die genannten Untersuchungsmethoden betreffen:

Der Typus der Hepatitis:
Elektrophorese: Zunahme der ß- sowie der γ-Globuline unter Verminderung der Albumine
Gesamteiweiß: leicht vermindert
Takata-Reaktion: in ca 50 % der Fälle positiv

Diese Veränderungen treten bei entzündlichen und anderen diffusen Leberparenchymschäden, aber auch bei hämolytischen Prozessen, bei Leukämien und malignen Tumoren der blutbildenden oder lymphatischen Gewebe auf.

Der Typus der Lebercirrhose:
Elektrophorese: starke Zunahme der γ-Globuline, mit breitbasigem hohem Gipfel; ß-Globuline oft erhöht; starke

Abnahme der Albuminfraktion
Gesamteiweiß: vermindert
Takata-Reaktion: in ca 60 % der Fälle positiv
Außer bei den verschiedenen Formen der Lebercirrhose sind diese Ergebnisse u.a. auch bei schwerer indurativer Lungentuberkulose und weiteren chronisch-entzündlichen Prozessen zu ermitteln.

Der Typus des Okklusionsikterus:
Elektrophorese: deutliche Abnahme der Albumine, Zunahme der α - und ß- sowie der γ-Globuline (ungefähr gleichmäßig)
Gesamteiweiß: normal oder wenig vermindert
Takata-Reaktion: negativ, selten positiv

WUHRMANN und WUNDERLY heben hervor, daß die Reaktionskonstellationen rein schematisch gedacht sind und Abweichungen nach der einen oder anderen Seite durchaus zulassen. Sie stellen extreme Formen von ganz bestimmten, mehr oder weniger umschriebenen Dysproteinämien dar. Die einzelnen Hepatopathien sind nicht durch nur für diese gültige, typische Elektrophoresediagramme gekennzeichnet. Die fließenden Übergänge zwischen verschiedenen pathologischen Vorgängen lassen auch nicht erwarten, daß sich z.B. die Serumeiweißverhältnisse bei einer Hepatitis so grundsätzlich von denen, die bei einer Lebercirrhose vorliegen, unterscheiden, daß auf Grund der elektrophoretischen Serumuntersuchung allein eine Diagnosestellung möglich ist. Die Zusammensetzung der Serumproteine ist jedoch häufig vom Stadium der Erkrankung abhängig. Von entscheidender Bedeutung sind weiter Umfang, Stärke und Lokalisation einer Leberschädigung. Vorgänge, die nur begrenzte Teile des Lebergewebes betreffen, wirken sich häufig nicht auf die Blutproteinkonzentrationen aus. Über die bei Lebererkrankungen des Menschen auftretenden Dysproteinämien liegen Veröffentlichungen in großer Zahl vor. In der humanmedizinischen Literatur angegebene Untersuchungsergebnisse wurden von SCHULER (1957) zusammengefaßt.

Ein besonderer Wert wird im Schrifttum der elektrophoretischen Verlaufsanalyse für die Überwachung des Krank-

heitsablaufs bei Lebererkrankungen zugesprochen. Hypalbuminämie und Hyper-γ-Globulinämie in wechselnder Stärke bestehen in der Regel bei allen diffusen Leberschäden. Übereinstimmend wird der Umfang der Albuminverminderung als Gradmesser für die Schwere einer Lebererkrankung bewertet. Die α - und ß-Globulinfraktionen verhalten sich bei Hepatopathien nicht einheitlich. Die α -Globuline sind auch im akuten Stadium bei entzündlichen Lebererkrankungen nicht immer und vielfach nur geringgradig erhöht. Sie liegen in manchen Fällen sogar unter der Norm.

Albuminverminderung und γ-Globulinerhöhung sind Ausdruck für das Fortschreiten einer Hepatitis. Erhöhte ß-Werte werden bei Leberentzündungen häufig beobachtet. Dies ist jedoch nicht charakteristisch für Besonderheiten der Pathogenese oder des Krankheitsverlaufs und kann sowohl im Anfangsstadium als auch während der Ausheilungsphase bestehen.

Sehr hohe γ-Globulinwerte und Hypalbuminämie treten in der Mehrzahl der Fälle auch bei Lebercirrhosen auf. Die γ-Fraktion im Elektrophoresediagramm ist hier durch eine breitbasige hohe Zacke gekennzeichnet. Veränderte α - und ß-Globulinwerte sind nicht charakteristisch für Lebercirrhosen, wenn sie auch öfters gefunden werden. Nur beim Vorliegen von biliären Cirrhosen kann eine ß-Globulinvermehrung nahezu regelmäßig beobachtet werden. Da sie auch bei anderen Hepatopathien auftritt, kann sie nicht als spezifisches Diagnostikum angesehen werden.

Beim Obstruktionsikterus sind die ß-Globuline oft besonders deutlich erhöht, wobei Hypalbuminämie und Anstieg der α - und γ-Globuline zurücktreten. Es wurden jedoch auch Fälle von totalem Choledochusverschluß beschrieben, die nicht durch erhebliche ß -Globulinvermehrung gekennzeichnet waren.

Die akute gelbe Atrophie verursacht Hyper-γ-Globulinämie und Hypalbuminämie, die oft extreme Ausmaße erreichen. Die α - und ß-Globuline können dabei im normalen Bereich liegen.

Maligne Tumoren der Leber und Lebermetastasen wirken sich häufig nur geringgradig auf die Serumproteine aus. Gefunden werden neben Albuminverminderung in erster Linie vermehrte α -Globuline. Die γ-Globuline können unter die Norm absinken.

Cholangitis führt im akuten Stadium in erster Linie zu einer α -Globulinerhöhung. Mit dem Fortschreiten der entzündlichen Gallengangsveränderungen verlagert sich die Globulinvermehrung von der α - auf die γ-Fraktion.

c) Serumeiweißuntersuchungen beim Rind

Normalwerte und physiologische Einflüsse auf die Serumeiweißverhältnisse des Rindes

In Tabelle 2 sind die von verschiedenen Autoren ermittelten Normalwerte für die einzelnen Serumeiweißfraktionen und das Gesamteiweiß beim Rind zusammengestellt. Wenn auch diese Ergebnisse wegen der unterschiedlichen Methoden nur bedingt miteinander vergleichbar sind, so wird doch deutlich, daß die Konzentrationen der Serumproteine bei gesund erscheinenden Rindern erheblichen Schwankungen unterworfen sind. Bei den angegebenen Werten handelt es sich zudem um Durchschnittswerte, die aus z.T. erheblich voneinander abweichenden Einzelwerten errechnet wurden. Die wirklichen Schwankungsbreiten sind deshalb als noch größer anzusehen. Aus diesen Gründen wird die Berechtigung zur Aufstellung von Normalwerten beim Rind in Frage gestellt (EDSALL, 1947; LÜNEBURG, 1953; ZIMMERLI, 1954; STÖCKL, 1956; CZERNICKI, 1957; FRANZ, 1960).

Mehrere Autoren prüften, ob verschiedene physiologische und umweltbedingte Faktoren sich auf die Serumeiweißverhältnisse des Rindes auswirken.
Signifikante Differenzen zwischen den Serumeiweißwerten verschiedener Rinderrassen bestehen nicht (BOGUTH, 1954; KALMS, 1957).

Das Alter des Rindes wirkt sich in gewissem Umfang auf die Serumproteinkonzentrationen aus. Bei Kälbern sind

T a b e l l e 2

Ergebnisse der Serumeiweißbestimmungen an normalem Rinderserum

	unt. Tiere	Methode	Albumin rel.%	±	Globuline rel.% α-	±	ß-	±	γ-	±	Gesamt-Eiweiß	±
EDSALL (1947)		Tiselius	41,0		13,0		8,2		37,8		-	
BRADISH u.M.(1954)	51	Tiselius	46,6		14,9		8,9		30,9		6,97	
CZERNICKI (1957)	10	Antweiler	38,9		13,0		7,3		40,1		6,99	
GREVE (1957)		Antweiler	45,1		14,4		8,2		32,3		7,28	
WINKLER (1957)	60	Antweiler	45,6	3,6	15,0	2,1	7,6	1,2	31,8	3,3	7,18	0,4
EBEL (1953)	15	PE	37,52	1,48	13,49	1,32	9,92	1,64	39,07	2,47	-	
LÜNEBURG (1953)	11	PE	42,78	3,00	11,30	1,56	12,30	2,17	33,58	2,79	-	
BOGUTG (1954)	20	PE	43,8	2,9	13,7		11,4		31,1		7,50	0,35
CHOPARD (1954)	11	PE	52,4		12,5		12,5		22,6		6,98	
GEINITZ (1954)	14	PE	44,9		13,1		12,3		29,1		-	
HARTUNG (1954)		PE	40,9		14,1		19,0		26,3		6,6	
ZIMMERLI (1955)	5	PE	48,8		14,1		12,4		24,7		7,31	
NILSSON u.M.(1956)	38	PE	34,8	5,03	11,4	2,69	11,0	2,32	43,0	4,97	7,21	0,55
KALMS (1957)	111	PE	41,9	6,6	15,1	3,4	16,4	3,6	26,6	5,6	6,5	0,5
FRANZ (1960)	8	PE	44,8		13,0		12,0		30,3		7,7	
PERK &LOBL (1959)	8	PE	46,5	3,88	12,4	1,02	11,2	2,04	27,8	3,98	8,12	0,39
SCHIN TSIN-DA (1959)	7	PE	44,0	0,91	15,3	1,56	16,7	2,85	23,9	2,11	-	
WÜNSCHE (1960)	15	PE	39,5	3,3	13,6	1,9	11,3	1,9	35,0	3,1	-	
STÖCKL (1956)	154	PE	31,7-56,2		9,3-22,4		5,8-19,4		19,5-44,3		-	

gegenüber den Serumeiweißverhältnissen älterer Rinder bestimmte Abweichungen zu erkennen. Das γ-Globulin fehlt im Serum nüchterner neugeborener Kälber völlig oder ist nur in Spuren vorhanden (HANSEN u. PHILLIPS, 1947; EBEL, 1953; CHOPARD, 1954; HARTUNG, 1954; WINKLER, 1957; ZERZAWY, 1958). EBEL (1953) führt das Fehlen von γ-Globulin beim neugeborenen Kalb auf die diaplazentaren Verhältnisse des Rindes zurück. Nach der Aufnahme von Kolostrum am ersten Lebenstag steigt das γ-Globulin des Kalbes steil an. Bei kolostrumfreier Ernährung oder bei Kolostrumzufuhr erst später als 24 Stunden nach der Geburt erhöht sich der γ-Globulinspiegel nur allmählich und erreicht den Normalwert erst nach Ablauf mehrerer Wochen (HANSEN u. PHILLIPS, 1947; ZERZAWY, 1958).
ZERZAWY (1958) verglich die elektrophoretisch ermittelten Serumeiweißwerte von Kühen mit denen ihrer neugeborenen Kälber. Relationen waren nicht zu erkennen. Bei Verlaufsanalysen bis zum 14. Lebenstag fiel das Albumin der Kälber nach der Kolostralaufnahme ab und stieg danach allmählich wieder an. Die α -Globulininfraktion sank gleichmäßig ab, während sich die Werte für das ß-Globulin erhöhten. Das γ-Globulin stieg nach der Aufnahme von Kolostrum zunächst sprunghaft an und sank bis zum 14. Tag wiederum leicht ab.

Bei Tieren im Alter von mehr als zwei Jahren ändern sich die Werte nur noch unerheblich (WINKLER, 1957; WÜNSCHE, 1960). Das Serumgesamteiweiß steigt mit zunehmendem Alter leicht an (HARTUNG, 1954; WINKLER, 1957). Gleichzeitig sinken die relativen Albuminwerte leicht ab (HARTUNG, 1954; WINKLER, 1957; WÜNSCHE, 1960). Die absoluten Albuminprozentwerte ändern sich jedoch während des ganzen Lebens nicht (HARTUNG, 1954). Die relative Albuminverminderung beruht auf der absoluten Erhöhung der Globulinkonzentration. Diese Beobachtung unterstreicht den Wert der Umrechnung der relativen Prozentwerte in absolute, die anhand des gleichzeitig ermittelten Gesamteiweißwertes leicht möglich ist. Die γ-Globuline nehmen beim Rind im Laufe des Lebens zu (HARTUNG, 1954; WINKLER, 1957; WÜNSCHE, 1960).

Vom Alter abhängige Konzentrationsunterschiede für α- und ß-Globulin wurden von den Untersuchern nicht eindeutig ermittelt.

Das Geschlecht hat keinen deutlichen Einfluß auf die Serumeiweißfraktionen (BOGUTH, 1954; HARTUNG, 1954; WINKLER, 1957). Lediglich bei Kälbern im Alter von 10 bis 12 Monaten erhielten PERK und LOBL (1959) unterschiedliche Werte: bei Kuhkälbern waren die γ-Globulinanteile höher als bei Bullenkälbern. Nach Injektion von Oestrogen (Diaethylstilboestrol) glichen sich die γ-Globulinwerte der Bullenkälber denen der Kuhkälber weitgehend an. Den Einfluß der Brunst auf die Serumproteine untersuchte KREITER (1956). Bei 4 von 7 Kühen war die γ-Globulinfraktion z.Zt. der Ovulation vermindert, für die übrigen Fraktionen waren Veränderungen nicht zu ermitteln. Charakteristische Verschiebungen im Serumeiweißbild konnte CZERNICKI (1957) im Verlauf der Trächtigkeit nicht eindeutig feststellen. Die Autorin weist darauf hin, daß beim Rind andere physiologische Bedingungen als beim Menschen bestehen, da die Laktation während des größeren Teils der Gravidität andauert. HARTUNG (1954) fand bei 2 trächtigen Kühen verminderte Albuminwerte. WINKLER (1957) erhielt bei elektrophoretischen Serum-Untersuchungen von 2 hochträchtigen Kühen erhöhte γ-Globulinwerte bei entsprechender Verminderung von Albumin und α-Globulin. Ähnliche Ergebnisse erzielten auch PERK und LOBL (1959).

Nach SCHLEINKOFER (1956) sinkt der Albuminspiegel während der Gravidität allmählich ab und erreicht den Ausgangswert erst 4 Wochen post partum. Die Globuline sind nur z.T. und lediglich kurz vor und nach der Geburt verändert. Das α-Globulin bleibt konstant, der ß-Globulinwert ist ante partum erhöht und das γ-Globulin ist kurz vor, während und nach der Geburt vermehrt. Die Veränderungen im Serumeiweißbild sind jedoch individuell verschieden und nicht so stark ausgeprägt wie bei der Frau, so daß Gesetzmäßigkeiten nicht eindeutig zu erkennen sind.

Den Gesamteiweißgehalt und den Albuminanteil fand KNORR (1960) z. Zt. der Geburt erniedrigt, während die α-, ß-

und γ-Globuline geringgradig erhöht waren. CHOPARD (1954) konnte weder für das Gesamteiweiß noch für die einzelnen Serumeiweißfraktionen Veränderungen im Verlauf der Geburt beobachten.

EDSALL (1947) sieht die erheblichen Schwankungsbreiten der elektrophoretisch ermittelten Serumprotein-Normalwerte als typisch für Tiere an. GEINITZ (1954) vermutet, daß die unterschiedlichen Ergebnisse in erster Linie auf Milieufaktoren, insbesondere auf unterschiedliche Fütterung zurückzuführen sind. PERK und LOBL (1959) erhielten weitgehend einheitliche Werte mit nur geringen Standardabweichungen. Die Autoren führen dies darauf zurück, daß die Tiere in bestimmte Gruppen eingeteilt wurden und Fütterung und Haltungsbedingungen gleich waren. Mittelwerte von 15 klinisch gesunden Tieren mit sehr geringen Streuwerten (für das Albumin $\sigma = \pm 1{,}48$; für das γ-Globulin $\sigma = \pm 2{,}47$) erzielte auch EBEL (1953). Demgegenüber ermittelte CZERNICKI (1957) mit der Antweiler-Apparatur an 10 klinisch gesunden Kühen aus einem Bestand (tuberkulose- und bangfrei) Serumeiweißwerte, die trotz der einheitlichen Haltungsbedingungen erheblich voneinander abwichen. Die Autorin fand bei Verlaufsanalysen, daß auch die Werte der Einzeltiere inkonstant sind, wenn auch hier die Schwankungen geringer bleiben als bei verschiedenen Tieren.

Den Einfluß der Futteraufnahme und den der Futterumstellung prüfte CHOPARD (1954). Die refraktometrisch bestimmten Gesamteiweißwerte waren drei Stunden nach Beginn der Fütterung mit Kraftfutter und Heu eindeutig erhöht, die prozentuale Verteilung der Serumproteine war vor und nach der Fütterung jedoch gleich. CHOPARD vermutet, daß die Erhöhung des Gesamteiweißwertes bei der Bestimmung mit dem Refraktometer durch eine Lipämie oder Glykämie nur vorgetäuscht wurde. Deutliche Veränderungen auf das Bluteiweißbild zeigten sich beim Übergang von der Heu- zur Grasfütterung. Das Gesamteiweiß stieg leicht an, die relative Albuminkonzentration sank bei gleichzeitiger Globulinerhöhung.

FRANZ (1960) untersuchte im Rahmen einer langfristigen Verlaufsanalyse den Einfluß einseitiger Fütterung mit Zuckerrübenblattsilage auf die Serumeiweißverhältnisse von 6 Rindern. Die α-Globulinfraktion war bei den einseitig gefütterten Tieren erheblich größeren Schwankungen unterworfen als bei normal gefütterten Kontrolltieren. Bei Kühen mit hoher Milchleistung ermittelten PERK und LOBL (1959) besonders deutliche Erhöhungen sowohl der absoluten Albumin- als auch der absoluten Globulinwerte. CHOPARD (1954) untersuchte die Serumproteine vor und nach dem Melken. Der Melkvorgang hat weder das Gesamteiweiß noch die Relationen zwischen den einzelnen Fraktionen beeinflußt. Auch die Prüfung der Serumeiweißverhältnisse vor und nach dem Transport in ein 1000 m höher gelegenes Gebiet ergab beim Rind keine veränderten Werte (CHOPARD, 1954).

Als Ursache für große individuelle Schwankungen der Serumeiweißwerte fand EWERBECK (1957) bei gesund erscheinenden Kaninchen pathologisch-anatomische Veränderungen. Er nimmt an, daß ähnliche Verhältnisse auch bei anderen Tieren vorliegen. LÜNEBURG (1953) mußte auf Grund des pathologisch-anatomischen Befundes von 105 klinisch gesund erscheinenden Rindern 94 der Schlachttiere bei der Ermittlung von Normalwerten ausschließen. STÖCKL (1956) fordert, daß der Ermittlung von Normalwerten eingehende klinische und serologische Untersuchungen vorausgehen müssen.

Zusammenfassend ist zu sagen, daß physiologische und milieubedingte Faktoren das Bluteiweißbild gesunder Rinder beeinflussen können. Außerdem können auch Erkrankungen mit latentem Verlauf zur Vortäuschung großer physiologischer Schwankungsbreiten für die Serumproteinkonzentrationen führen. Um diese Fehlermöglichkeiten weitgehend einzuschränken, ist es erstrebenswert, nicht nur die Ergebnisse der üblichen klinischen Diagnostik, sondern auch die Resultate serologischer Proben und anderer klinischer Laboruntersuchungen bei der Auswahl von Normaltieren zu berücksichtigen. Zur Aufstellung von Normalwerten können

auch die Serumeiweißwerte von solchen Tieren herangezogen werden, bei denen nach der Schlachtung keine pathologisch-anatomischen bzw. -histologischen Veränderungen festzustellen sind. Bei alleiniger Berücksichtigung des pathologisch-anatomischen Befundes von Schlachtrindern werden Immunisierungsvorgänge und akute Erkrankungen, die nur durch klinische Untersuchungsmethoden erkennbar sind, nicht erfaßt. Zu erstreben wäre die Auswahl von gesunden Tieren sowohl auf Grund anatomischer und histologischer als auch der Schlachtung vorausgehender klinischer und serologischer Untersuchungen.

Die Serumeiweißverhältnisse bei verschiedenen Krankheiten des Rindes

Über die Veränderungen der Serumeiweißverhältnisse bei akuten und chronischen Erkrankungen des Rindes liegt bereits eine Reihe von Veröffentlichungen vor.

Bei Brucellose-Infektionen des Rindes kann es zu Veränderungen der Serumeiweißzusammensetzung kommen. Diese Dysproteinämien treten jedoch nicht bei jeder Bang-Infektion auf und sind nicht krankheitsspezifisch. Die Serumeiweißverhältnisse ändern sich teils vor und teils nach dem Auftreten positiver serologischer Reaktionen. Soweit sich überhaupt Veränderungen zeigen, sind die γ-Globuline erhöht, die Albuminfraktion ist gleichzeitig vermindert, α - und ß-Globuline bleiben konstant (CZERNICKI, 1959). GREVE (1957) erhielt allerdings neben den von CZERNICKI beschriebenen Veränderungen auch vermehrte α-Globulinwerte.

Ähnliche Resultate wurden auch bei Tuberkulose des Rindes erzielt. Bei tuberkulösen Prozessen treten ebenfalls keine für diese Erkrankung typischen Abweichungen im Bluteiweißbild auf. Bei schwerer grobknotiger Tuberkulose des Lungenparenchyms steigt das γ-Globulin erheblich an. Die γ-Vermehrung geht auf Kosten der Albuminfraktion. Vereinzelte tuberkulöse Herde und tuberkulöse Prozesse in den Lymphknoten bleiben ohne Auswirkung auf die Bluteiweißkörper, während bei aktiven Prozessen zunächst die

α-Globulinwerte höher liegen (LÜNEBURG, 1953); ZIMMERLI, 1955; GREVE, 1957).

SCHIN TSIN-DA und Mitarbeiter (1959) stellten die papierelektrophoretisch bestimmten Serumeiweißwerte einer Gruppe von 21 tuberkulösen Kühen ohne klinische Symptome denen von 10 Tieren mit klinischen Symptomen gegenüber. Bei beiden Gruppen waren die γ-Globuline erhöht, die Albumine und auch die ß-Globuline lagen tiefer als die Normalwerte. Dabei ergab sich, daß der Grad der Veränderungen im Bluteiweißbild abhängig von der Intensität der Tuberkulose ist. Bei 12 an Maul- und Klauenseuche erkrankten Rindern ermittelten PERK und LOBL (1961) eine signifikante γ-Globulinvermehrung auf Kosten der Albumine bei gleichzeitiger signifikanter Verminderung des Gesamteiweißes. Vier Wochen nach der Infektion waren die Serumeiweißwerte wieder normal.

Neben Infektionen kommen auch Immunisierungsvorgänge als Ursache für Veränderungen der Serumeiweißverhältnisse in Betracht. Nach STÖCKL (1956) führt Antigenzufuhr in Form von Vakzinen oder lebenden Keimen zur Erhöhung des γ-Globulins, während das Albumin absinkt. Bei der Verimpfung von virulenten Keimen steigt zunächst die α-Fraktion an. Auf das ß-Globulin haben Immunisierungsvorgänge keinen Einfluß. FRANZ (1961) fand die Vakzination einer nicht trächtigen Färse mit MKS - Konzentrat - Vakzine ohne Auswirkung auf die Serumproteine.

Bei Rindern mit Reticulitis traumatica stimmen die Serumeiweißverhältnisse mit denen überein, die bei entzündlichen und abszedierenden Prozessen des Menschen zu beobachten sind; krankheitsspezifische Veränderungen treten jedoch nicht auf (TEICHMANN, 1958). - Bei akuten Entzündungsvorgängen beim Menschen sind die α-Globuline auf Kosten der Albumine vermehrt, chronische Entzündungen sind durch erhöhte γ-Globulinwerte gekennzeichnet. Abszesse führen beim Menschen zur Vermehrung der α- und ß-Globuline (WUHRMANN und WUNDERLY, 1952). -

LÜNEBURG (1953) ermittelte bei 2 Rindern mit Fremdkörperabszessen in Lunge und Leber sehr hohe γ-Globulinwerte. Bei einem Fall von Pericarditis traumatica erhielt BOGUTH (1953) erhöhte Werte für alle Globulinfraktionen. Die Albuminfraktion fiel dabei entsprechend ab.

ZIMMERLI (1954) untersuchte die Serumeiweißverhältnisse bei 6 Rindern mit Distomatose. Gegenüber den normalen Mittelwerten lagen die Albuminwerte um 3,1 % niedriger und die γ-Globulinwerte um durchschnittlich 5,4 % höher. Bei 91 Rindern mit Leberegelbefall erhielten MAGLAJLIC und Mitarbeiter (1959) erniedrigte Gesamteiweißwerte, wobei z.T. Relationen zwischen der Stärke der Schädigung und dem Absinken des Gesamteiweißspiegels bestanden. Erhebliche Veränderungen wurden von den Autoren auch für die einzelnen Proteinfraktionen gefunden: die γ-Globuline waren bedeutend erhöht. Dieser Anstieg ging hauptsächlich auf Kosten der Albumine; α- und ß-Globuline waren nicht signifikant vermehrt.

Diffuse Leberparenchymschäden des Rindes sind nach BOGUTH (1953) und TEICHMANN (1958) durch Zunahme der ß- und γ-Globuline bei gleichzeitiger Verminderung der Albumine gekennzeichnet. Diese Veränderungen gleichen weitgehend denen, die bei Hepatitisfällen des Menschen zu beobachten sind.

Bei Ketosen des Rindes kommt es zu einem signifikanten Anstieg der ß-Globuline bei gleichzeitiger Verminderung der γ-Globuline (HUHN, 1961).

TEICHMANN (1958) fand bei 3 Rindern mit puerperaler Acetonurie einen starken Anstieg der α-Globuline, der Albuminspiegel war normal, die ß- und die γ-Globuline waren normal oder leicht vermindert.

Nach operativen Eingriffen bei der Geburtshilfe (Kaiserschnitt, Embryotomie) ermittelte KNORR (1960) eine starke Verminderung des Gesamteiweißspiegels und des Albuminanteils bei gleichzeitiger α- und ß-Hyperglobulinämie. Der γ-Globulinanteil war dabei herabgesetzt.

Auch bei weiteren Erkrankungen des Rindes (akute und chronische entzündliche Prozesse und Indigestionen, Hämoglobinurie, verschiedene chirurgische Erkrankungen) stimmen die Veränderungen der Serumeiweißverhältnisse mit den von WUHRMANN u. WUNDERLY (1952) für entsprechende pathologische Zustände beim Menschen beschriebenen Verschiebungen weitgehend überein. Beim Rind sind diese Abweichungen allerdings nicht immer so ausgeprägt und treten weniger regelmäßig auf als beim Menschen (BOGUTH, 1953; HARTUNG, 1954; ZIMMERLI, 1954; TEICHMANN, 1958; SCHÄFER, 1959).

Eindeutig krankheitsspezifische Dysproteinämien konnten beim Rind bisher nicht nachgewiesen werden. Übereinstimmend wird darauf hingewiesen, daß die Verlaufsanalyse der Zustandsanalyse vorzuziehen ist, da erstere neben besser fundierten diagnostischen auch prognostische Schlüsse zuläßt (EBEL, 1953; HARTUNG, 1954; STÖCKL, 1956; TEICHMANN, 1958; CZERNICKI, 1959; KNORR, 1960).

d) Serumeiweißuntersuchungen bei anderen Tierarten

Elektrophoretische Serumeiweißanalysen wurden auch bei anderen Tierarten, in erster Linie beim Hund, vorgenommen und auf ihre diagnostische Bedeutung hin geprüft. Im Folgenden sind die Ergebnisse mehrerer Autoren kurz aufgeführt.

Beim Hund eignet sich die Elektrophorese der Serumproteine nicht als Leberfunktionsprobe, da Lebererkrankungen bei diesem nicht durch spezifische Pherogramme gekennzeichnet sind. Sowohl bei akuten als auch bei chronischen Hepatopathien ist häufig nur das γ-Globulin auf Kosten des Albumins vermehrt. Zuweilen sind gleichzeitig auch α - oder ß-Globulinvermehrungen zu beobachten. Ebenso können bei Lebererkrankungen des Hundes alle Globulinwerte erhöht sein. Relationen zwischen der Stärke der Parenchymschädigung und den Verschiebungen im Serumeiweißbild sind nicht zu erkennen (LETTOW, 1958; EIKMEIER, 1959; EIKMEIER u. MOEGLE, 1959; LETTOW, 1960).

Auch bei anderen Erkrankungen des Hundes lassen sich keine organ- oder krankheitsspezifischen Dysproteinämien feststellen. Bei akut-infektiösen Prozessen sind allerdings häufig die α-Globuline unter zeitweiliger Beteiligung der ß-Fraktion erhöht. Chronische Erkrankungen führen meist zu γ-Hyperglobulinämien (EBEL, 1953; EIKMEIER, 1959; EIKMEIER u. MOEGLE, 1959).

Abweichend von den bisher aufgeführten Ergebnissen fand BOGUTH (1953) die Serumeiweißbilder bei verschiedenen Erkrankungen des Hundes mit denen vergleichbar, die von WUHRMANN und WUNDERLY (1952) für entsprechende pathologische Vorgänge beim Menschen angegeben wurden. Hepatitis und andere Leberparenchymschäden waren durch Erhöhung der ß- und γ-Globuline gekennzeichnet, während bei chronischen Entzündungsvorgängen und Lebercirrhose eine unspezifische Vermehrung nur der γ-Globuline zu ermitteln war.

Bei verschiedenen Erkrankungen des Pferdes kommt es zu Verschiebungen im Serumeiweißbild, krankheits- oder organspezifische Eiweißbilder lassen sich jedoch ebenfalls nicht erkennen. Akute Entzündungen und Infektionskrankheiten sind durch α-Hyperglobulinämie gekennzeichnet, gleichzeitige Vermehrung der α- und der γ-Globuline ist bei subakuten und proliferativen Prozessen zu beobachten. Chronische Krankheitsprozesse und Infektionskrankheiten führen zur Erhöhung der γ-Globuline. Der Anstieg aller Globulinfraktionen wird bei Erkrankungen mit letalem Verlauf gefunden (KUNDE, 1960; MÜLLER u. Mitarb., 1961).

Bei Schafen mit besonders starkem Leberegelbefall erhöhen sich die γ-Globulinanteile bei gleichzeitiger Verminderung der Albuminfraktion deutlich. Geringgradiger Leberegelbefall wirkt sich bei Schafen nicht auf die Serumproteine aus (KONA, 1958).

4. Die Takata-Reaktion

A. Grundlagen der Takata-Reaktion

Bei der Takata-Reaktion handelt es sich um eine Serumlabilitätsprobe, deren Ausfall von der Zusammensetzung der Serumeiweißkörper abhängig ist. Der Test beruht darauf, daß aus Sublimatlösung und Natriumkarbonatlösung in Gegenwart von Schutzkolloiden eine kolloidale Lösung von Quecksilberoxyd entsteht. Als Schutzkolloid ist im Serum in erster Linie das Albumin wirksam. Dieser Serumeiweißkörper ist besonders geeignet, der Tendenz des Quecksilberoxyd-Sols zur Oberflächenverkleinerung, wie sie bei allen kolloidalen Lösungen gegeben ist, entgegenzuwirken. Die Schutzfunktion des Albumins kommt nur bei einer bestimmten Konzentration desselben zur Geltung. Ist die Albuminfraktion zugunsten der Globuline vermindert, so kommt es zu einer Ausflockung (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952; HALLMANN, 1958; BEGEMANN u. HARWETH, 1961). Neben quantitativen Verschiebungen spielen auch qualitative Veränderungen der Serumproteine eine Rolle für das Ausfallen des Takata-Tests. Beim positiven Ergebnis der Reaktion liegen sogenannte Takata-Proteine vor, die bei der elektrophoretischen Auftrennung der Serumproteine mit den γ- und z.T. auch mit den ß-Globulinen wandern (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952).

B. Die Methodik der Takata-Reaktion

Der Grad der Verschiebungen im Serumeiweißbild wird bei der Takata-Reaktion an einer Verdünnungsreihe abgelesen. Dabei wird entweder das Serum bei konstanter Reagensmenge oder der Anteil des zugesetzten Reagens bei gleichbleibender Serumkonzentration variiert.

Zur Durchführung der Methode nach JEZLER (1934) wird in 7 Reagenzröhrchen mit physiologischer Kochsalzlösung eine Serumverdünnungsreihe von 1:2 bis 1:128 angesetzt. Dazu werden in jedes Röhrchen 0,25 ml einer zehnprotentigen

Natriumkarbonatlösung und 0,3 ml Takata-Reagens, das aus gleichen Teilen von 0,5-prozentiger Sublimatlösung und 0,02prozentiger Fuchsinlösung besteht, hinzugegeben. Die Ablesung erfolgt nach vierundzwanzigstündigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur. Die Reaktion gilt bei menschlichem Serum als positiv, wenn ein flockiger Niederschlag in wenigstens 3 aufeinanderfolgenden Röhrchen (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952) bzw. bei einer Serumverdünnung von mindestens 1:32 (MAREK u. MÒCSY, 1956) zu erkennen ist.

Bei der Modifikation der Takata-Reaktion nach MANCKE und SOMMER (1936) werden zu je 0,1 ml Serum und 0,4 ml zehnprozentiger Natriumkarbonatlösung abgestufte Mengen von 0,25prozentiger Sublimatlösung hinzugegeben. Die gesamte Verdünnungsreihe umfaßt in 11 Röhrchen Sublimatkonzentrationen von 20 bis 120 mg %. Um den Arbeitsaufwand zu verringern, werden jedoch zunächst nur 3 Röhrchen dieser Reihe mit Sublimatkonzentrationen von 40,70 und 100 mg % angesetzt. Nach 30 Minuten wird mit einer Lupe die erste Ablesung vorgenommen (Schnellflockung). Stellt man dabei z. B. bei einer Sublimatkonzentration von 70 mg % eine Flokkung fest, so wird in einem zweiten Arbeitsgang geprüft, ob diese auch bei den beiden nächstniedrigen Sublimatkonzentrationen noch auftritt. Die zweite Ablesung erfolgt mit bloßem Auge nach 24 Stunden. Die niedrigste Sublimatkonzentration, bei der eben noch Flockung festgestellt wird, ist für die Bewertung der Reaktion maßgebend. (Grenzkonzentration)

Die Modifikation der Takata-Reaktion nach UCKO wird ebenfalls mit konstanten Serummengen durchgeführt. Bei dieser Methodik wird jedoch nicht nur die Sublimatkonzentration in den einzelnen Röhrchen verändert, sondern auch die Menge der jeweils zugesetzten Natriumkarbonatlösung variiert (UCKO, 1942; MAREK u. MÒCSY, 1956).

C. Die diagnostische Bedeutung der Takata-Reaktion

Diese Flockungsreaktion wurde von TAKATA im Jahre 1925 für die Differentialdiagnose der Pneumonien des Menschen entwickelt. Erst später kam sie auch in der Leberdiagnostik

zur Anwendung. Es handelt sich dabei also nicht um eine spezifische Leberfunktionsprobe. Bedeutung für die Leberdiagnostik kommt der Takata-Reaktion jedoch dadurch zu, daß der Ausfall in hohem Maße vom Albumingehalt des Serums abhängig ist und Albuminverminderung vor allem bei schweren Leberschädigungen besteht. Auch bei Dys- und Paraproteinämien anderer Genese kann der Takata-Test positiv ausfallen. Hyperglobulinämien verursachen jedoch nur dann eine positive Flockung, wenn gleichzeitig Hypalbuminämie vorliegt (SCHULER, 1957). Eine Gesetzmäßigkeit für den Ausfall der Takata-Reaktion existiert nicht. Das Ergebnis kann beim gleichen Patienten auch bei unverändertem Krankheitsbild wechseln. Eine einwandfreie positive Flockung ist stets als pathologisch zu bewerten. Die Takata-Reaktion kann jedoch auch beim Vorliegen eines schweren Leberschadens negativ ausfallen (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952).

Trotz ihrer Unspezifität wird die Takata-Reaktion auf humanmedizinischem Gebiet neben anderen Untersuchungen als diagnostisches Hilfsmittel vielfach angewandt. Wie bereits erwähnt, ist eine positive Takata-Reaktion besonders häufig bei Lebercirrhosen und bei akuten Hepatitiden des Menschen zu beobachten. Auch bei akuter gelber Atrophie, Leberabszessen und Cholangitiden ist der Test häufig positiv, während beim extrahepatischen Verschlußikterus und bei malignen Tumoren der Leber meist keine pathologische Ausflockung festzustellen ist. Die Takata-Reaktion kann auch bei verschiedenen akuten und chronischen entzündlichen Prozessen ohne Leberbeteiligung positiv ausfallen, vor allem bei Pneumonien, Lungentuberkulosen, Pleuritiden und chronischen Nierenschädigungen. Bei Fieberzuständen beruht der positive Ausfall in erster Linie auf einer Vermehrung von γ-Globulinen mit Antikörpercharakter. Außerdem wird eine stark positive Flockung besonders häufig bei γ-Globulin-Plasmocytomen und bei Makroglobulinämie Waldenström gefunden (MANCKE u. SOMMER, 1936; WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952; HALLMANN, 1958; BEGEMANN u. HARWERTH, 1961).

Auch in der Veterinärmedizin wurde die Takata-Reaktion auf ihre Verwendbarkeit für die Leberdiagnostik geprüft.

ALTMEYER (1939) fand bei Untersuchungen, die er mit der Methodik nach JEZLER (1934) durchführte, bei 44 klinisch gesunden Rindern den Test in 7 Fällen positiv. Bei 14 an Distomatose verschiedenen Grades erkrankten Rindern war die Flockung nur in 3 Fällen positiv. Auch bei 2 Fällen von fettiger Leberdegeneration und in 3 Fällen von Nekrobazillose war nur in je einem Fall eine pathologische Reaktion zu beobachten. ALTMEYER betont, daß gerade besonders schwere Lebererkrankungen nicht durch eine positive Flockung gekennzeichnet waren. Demgegenüber ermittelte er bei tuberkulösen Rindern in 55 von 69 Fällen und bei 6 von 11 an Reticuloperitonitis traumatica erkrankten Tieren positive Reaktionen.

Nach MAREK und MÓCSY (1956) eignet sich der Takata-Test nicht zur Untersuchung der Seren von Pflanzenfressern. Dagegen weist eine stark positive Ausflockung bei Hunden mit großer Wahrscheinlichkeit auf eine schwere Leberparenchymschädigung hin.

5. Die Prothrombinbestimmung

A. Die Physiologie der Blutgerinnung

a) Der Gerinnungsvorgang

Die Blutgerinnung stellt eine lebenswichtige Funktion dar, denn im Falle des Fehlens oder einer Minderung dieser Eigenschaft kann jede Läsion eines Blutgefäßes zum Verbluten führen. Geronnen ist Blut dann, wenn das im Plasma enthaltene flüssige Fibrinogen in das feste Fibrin umgewandelt ist. Diese Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung wird durch das Ferment Thrombin ausgelöst. Thrombin befindet sich in seiner inaktiven Vorstufe, dem Prothrombin, ebenfalls im Blutplasma und wird bei der Auslösung des Gerinnungsablaufs auf fermentativem Wege durch die Thrombokinase unter Mitwirkung von freien Kalziumionen aktiviert. Nach früheren Anschauungen sind an der Blutgerinnung nur die vier Faktoren Fibrinogen (Faktor I), Prothrombin (Faktor II), Thrombokinase (Faktor III) und Kalzium (Faktor IV)

beteiligt (MORAWITZ, 1905). Später wurden jedoch zahlreiche zusätzliche Faktoren entdeckt, die fördernd (Aktivatoren, Akzeleratoren) oder hemmend (Inhibitoren) in den Blutgerinnungsmechanismus eingreifen. Die fördernden Gerinnungsfaktoren aktivieren und beschleunigen den Gerinnungsablauf. Aufgabe der Inhibitoren ist es, das Blut im Gefäßsystem flüssig zu erhalten und im Überschuß aktivierte Gerinnungsfaktoren zu neutralisieren. Beim Fehlen der Inhibitoren würde jede lokale Auslösung des Gerinnungsmechanismus zur Erstarrung des gesamten Blutes innerhalb des Gefäßsystems führen (JÜRGENS u. BELLER, 1959).
Das komplexe Geschehen der Blutgerinnung konnte bisher nicht restlos geklärt werden. Unklar sind vor allem noch die besonders komplizierten Vorgänge bei der Auslösung des Gerinnungsablaufs, obwohl die Untersuchungen der letzten Jahre auch auf diesem Gebiet zur Erweiterung der Kenntnisse geführt haben.

Fest steht heute, daß die Blutgerinnung durch zwei verschiedene Thrombokinasen, die Blut- und die Gewebsthrombokinase, zustande kommen kann (JÜRGENS u. BELLER, 1959; SCHWICK, 1961).

Nach den bisherigen Kenntnissen verläuft der Vorgang der Blutgerinnung wie folgt:

Ausgelöst wird der Koagulationsmechanismus durch die Bildung der B l u t - T h r o m b o k i n a s e . Sie entsteht beim Vorhandensein einer benetzbaren Oberfläche (Wundfläche, pathologische Intima) aus den Plasmafaktoren VIII (Prothrombokinase), IX (Christmas-Faktor), X (Stuart-Power-Faktor), XI (Plasma-Thromboplastin-Antecedent), XII (Hagemann-Faktor) und V (Plasma-Akzelerator-Globulin), dem Plättchenfaktor 3 und freien Kalziumionen. Die Bildung der Blutthrombokinase geht wahrscheinlich über verschiedene Zwischenprodukte vor sich.

Die G e w e b s - T h r o m b o k i n a s e ist in ihrer inaktiven Form in jeder Körperzelle vorhanden und wird durch Zellschädigung frei. Sie wird durch Faktoren V, VII, X und freie Kalziumionen aktiviert. Das zusätzliche Bestehen der Gewebsthrombokinase kann als Sicherungsmecha-

nismus zur Blutstillung bei großflächigen Gewebsläsionen angesehen werden.

Durch beide Thrombokinasen kann Prothrombin in das gerinnungsaktive Ferment Thrombin übergeführt werden. Die ersten Spuren des gebildeten Thrombins födern die Thrombozytolyse. Durch den Zerfall der Blutplättchen werden die gerinnungsfördernden Plättchenfaktoren vermehrt frei. Außerdem bewirkt das Thrombin eine erhebliche Aktivierung des Faktors V und führt diesen damit in den Faktor VI (Serum-Akzelerator-Globulin) über. Durch die Wirkung des Faktors V bzw. VI wird wiederum die Thrombinbildung beschleunigt und die Menge des gebildeten Thrombins vergrößert. Wahrscheinlich aktiviert das Thrombin auch den Faktor VII. Der Faktor VII verursacht ebenfalls eine Beschleunigung der Thrombinbildung.

Sobald nach einer kurzen Latenzzeit eine gewisse Menge Thrombin gebildet ist, wird Fibrinogen über die noch flüssige Vorstufe Profibrin in das feste Fibrin umgewandelt. Diese Reaktion beschleunigt der Thrombozytenfaktor 2. Nach erfolgter Fibrinbildung wird das überschüssige Thrombin durch Antithrombin III zum Metathrombin inaktiviert.

Das Maschenwerk des entstandenen Fibringerinnsels schließt alle Zellelemente des Blutes in sich ein. Der Thrombozytenfaktor Retraktozym verursacht fermentativ die Zusammenziehung der Fibrinfäden und damit die Festigung des Koagulums. Gleichzeitig kommt es unter dem Einfluß eines weiteren Thrombozytenfaktors zu einer Vasokonstriktion im Bereich der Gefäßverletzung, wodurch in Verbindung mit der Retraktion der Wundverschluß intensiviert wird. Nach Vollendung des Gerinnungsablaufs beginnt mit der Gewebsregeneration die Wiederauflösung des Fibringerinnsels. Dieses als Fibrinolyse bezeichnete Geschehen wird ähnlich der Koagulation durch ein kompliziertes Fermentsystem ausgelöst, stellt jedoch keine Umkehrung des Gerinnungsvorganges dar. Wieder verflüssigtes Blut ist nicht mehr gerinnungsfähig, es enthält keine Gerinnungskomponenten sondern Eiweißabbauprodukte (Polypeptide und Aminosäuren),

da das Fibrin durch die Fibrinolyse, die mit der Eiweißverdauung vergleichbar ist, zerstört wird.

Eine schematische Darstellung des Blutgerinnungsvorganges, die unter Zugrundelegung der Auffassungen von JÜRGENS und BELLER (1959) und SCHWICK (1961) zusammengestellt wurde, ist in Abbildung 1 wiedergegeben.

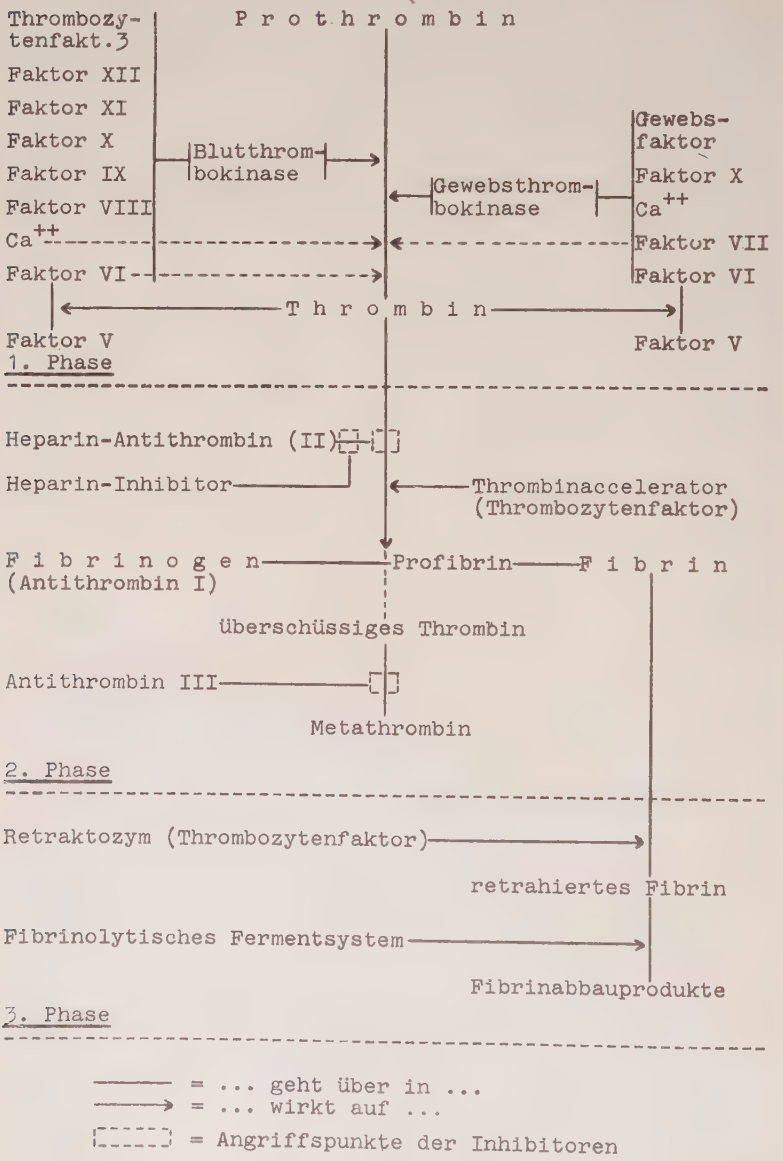
b) Die Bildung der Gerinnungsfaktoren

Da Leberparenchymschäden zur Verminderung von Prothrombin, Fibrinogen und anderen plasmatischen Gerinnungsfaktoren führen, liegt die Vermutung nahe, daß diese Eiweißkörper in der Leber gebildet werden (QUICK, 1935; KOLLER, 1941; WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952; EWERBECK, 1957).
Zur Bildung des Prothrombins ist Vitamin K unbedingt notwendig. Die Resorption dieses fettlöslichen Wirkstoffes ist von Galle und Pankreassaft abhängig, so daß der Prothrombinmangel bei Leberschädigungen nicht als schlüssiger Beweis für die Entstehung des Prothrombins in der Leber anzusehen ist, sondern auch als Folge der durch verminderte Gallensekretion gestörten Vitamin-K-Resorption gedeutet werden kann (SCHMID, 1951). Weiter ist zu bedenken, daß Prothrombin und auch Fibrinogen ihrem chemischen Aufbau und ihrer elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit gemäß zu den Globulinen gehören. Wie bereits erwähnt, wird die Synthese der Globuline von den meisten Autoren in erster Linie dem reticulo-endothelialen System zugeschrieben. Im Sternalmark wurden bei vergleichenden Untersuchungen gegenüber dem peripheren Blut größere Prothrombinkonzentrationen nachgewiesen. Nach SCHMID (1951) sprechen diese Ergebnisse sowie Hypoprothrombinämien bei verschiedenen Erkrankungen des Knochenmarks für die Entstehung des Prothrombins im reticulo-endothelialen System. Andererseits konnte nachgewiesen werden, daß isolierte Lebermitochondrien in vitro die Fähigkeit besitzen, unter Verbrauch von Faktor VII und Vitamin K Prothrombin zu synthetisieren. Mitochondrien anderer Organe, auch des Knochenmarks, sind dazu nicht in der Lage (LASCH u. ROKA, 1954).

Abbildung 1

Schematische Darstellung der Blutgerinnung

(nach JÜRGENS u. BELLER, 1959, und SCHWICK, 1961)



B. Methoden der Bestimmung der Gerinnungsfaktoren

Die direkte quantitative Erfassung des Prothrombins, etwa durch Ausfällung und anschließende Wägung oder durch Elektrophorese ist wegen seiner geringen Konzentration im Blutplasma praktisch unmöglich. Allerdings ist die elektrophoretische Darstellung des Prothrombins nach vorausgehender Konzentrierung durchführbar (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952). Bei der elektrophoretischen Auftrennung der Plasmaproteine wandert das Prothrombin in der ß-Fraktion (EDSALL, 1947; SCHULER, 1957).

Wesentlich einfacher ist die indirekte Bestimmung des Prothrombins. QUICK entwickelte als erster im Jahre 1935 eine brauchbare Methode zur Untersuchung des Prothrombingehaltes im Blut: die Prothrombinzeitbestimmung. QUICK ging davon aus, daß die Gerinnungszeit von Oxalat- bzw. Citratplasma nach Zugabe überschüssiger Mengen Thrombokinase und gleichzeitiger optimaler Rekalizifizierung proportional der Prothrombinkonzentration sein muß. Nach der Entdeckung weiterer Gerinnungsfaktoren stellte sich jedoch heraus, daß am Zustandekommen der Prothrombinzeit neben dem Prothrombin auch die Aktivatoren und Antithrombin beteiligt sind. Die als Einphasenmethode bezeichnete Bestimmung nach QUICK gibt deshalb nur über die Gesamtheit des Gerinnungsverlaufs Auskunft, nicht aber über die Konzentration des Prothrombins im Plasma. Zur Ausführung der Original-QUICK-Methode werden 9 ml Venenblut mit 1 ml einer M/10 Natrium-Oxalat-Lösung gemischt und das Oxalatblut zentrifugiert. 0,1 ml des gewonnenen Plasmas und 0,1 ml einer Thrombokinasesuspension werden in ein Röhrchen pipettiert und 1 bis 2 Minuten lang im Wasserbad auf 37° C erwärmt. Dazu wird 0,1 ml einer ebenfalls auf 37° C erwärmten M/40 Kalziumchloridlösung gegeben. Die Zeit bis zum Auftreten eines Koagulums wird mit der Stoppuhr gemessen.

Nach den Angaben von QUICK (1935) ist es wichtig, daß die Kalziumkonzentration optimal ist, da bei Zugabe zu geringer Mengen die Gerinnungszeit bedeutend verlängert wird,

während eine zu hohe Konzentration den Ablauf der Gerinnung beschleunigt.

Die Prothrombinzeit wird auch von der Temperatur beeinflußt. Nach den Angaben von SCHMID (1951) wirken sich jedoch Temperaturunterschiede im Bereich zwischen 32 und 40° C nicht auf die Aktivität der Thrombokinase aus. MONTIGEL (1952) fand, daß die Aktivität der Thrombokinase "GEIGY" zwischen 20 und 37° C konstant ist. Allerdings ermittelte er bei seinen Untersuchungen bei 37° C die geringsten Streuwerte.

Um den Prothrombingehalt des Plasmas quantitativ bestimmen zu können, wurde ein Verfahren entwickelt, bei dem unter weitestgehender Ausschaltung der gerinnungshemmenden Faktoren zunächst das Prothrombin vollständig in Thrombin überführt wird. In einem zweiten Arbeitsgang wird die Zeit bestimmt, in der das entstandene Thrombin Fibrinogen konstanter Konzentration in Fibrin umwandelt (Zweiphasenmethode). Im Gegensatz zur Einphasenmethode wird hier die Prothrombinaktivierung mit stark verdünntem Plasma (1:50) und bei niedriger Temperatur (24° C) durchgeführt. Dadurch wird in der ersten Phase die Antithrombinwirkung praktisch ausgeschaltet und das Fibrinogen des Testplasmas so stark verdünnt, daß es keinen Einfluß auf die Gerinnung ausübt. Die starke Verdünnung bewirkt ferner eine Verzögerung der Umwandlungsgeschwindigkeit, die es ermöglicht, die Aktivierung des Prothrombins in der ersten Phase laufend zu kontrollieren (RIEBEN, 1947). Die Zeit, die für die Umwandlung des Prothrombins in Thrombin bei diesem Verfahren benötigt wird, gibt bei optimalen Versuchsbedingungen auch einen Anhaltspunkt für die vorliegende Konzentration und Aktivität der Gesamtheit der Akzeleratoren (SCHULTZE u. SCHWINCK, 1953).

Nach der Entdeckung der Akzeleratoren V und VII wurden Verfahren entwickelt, die es ermöglichten, auch diese Gerinnungsfaktoren zu erfassen. Im Prinzip werden solche Bestimmungen nach der Einphasenmethode mit verdünntem

Plasma ausgeführt. Durch Zusatz von standardisierten Reagenzien werden jeweils das Prothrombin und einer der genannten Faktoren während des Tests im Überschuß konstant gehalten und dadurch die Bestimmung des anderen Faktors ermöglicht. Mit Hilfe standardisierter Akzeleratorenpräparate ist es auch möglich, das Prothrombin mit diesem modifizierten Einphasenverfahren zu bestimmen. Diese Technik ist jedoch unzuverlässiger als das Zweiphasenverfahren, weil die nicht absolut gleiche und auch extrem hohe Dosierung der Akzeleratoren-Zusätze zu Fehlresultaten führt. (SCHULTZE u. SCHWICK, 1953).

QUICK entwickelte 1947 eine Methode, die es ermöglicht, die Konzentration des nach der spontanen Blutgerinnung im Serum verbliebenen Prothrombins zu bestimmen (Prothrombinverbrauchstest). Bei diesem besonders für die Diagnostik der Thrombopenien und Hämophilien geeigneten Test wird Serum zu einem Gemisch aus Kalzium, Thrombokinase und standardisierter Fibrinogenlösung gegeben und die Gerinnungszeit gemessen. Das Verfahren wird eine, drei und zwölf Stunden nach der Spontangerinnung ausgeführt.

Auch für die quantitative Erfassung der Hauptantagonisten des Thrombins, des Serum-Antithrombins und des Heparin-Antithrombins besteht klinisches Interesse. QUICK (1938) entwickelte ein Verfahren zur Bestimmung des Serum-Antithrombins: Dem zu untersuchenden, defibrinierten Plasma wird standardisierte Thrombinlösung zugegeben und diese Mischung auf 37° C erwärmt. Davon werden in gewissen Zeitabständen Proben entnommen, die in konstante Fibrinlösungen gegeben werden. Die gemessenen Gerinnungszeiten sind proportional der verbliebenen Thrombinmenge.

Heparin-Antithrombin wird von JÜRGENS (1952) auf folgende Weise bestimmt: Zu einem Gemisch aus gleichen Teilen Plasma und Aqua dest. wird eine 1:10 verdünnte Thrombinlösung hinzugegeben und die Gerinnungszeit gemessen.

Die Erkennung des Gerinnungseintritts ohne technische Hilfsmittel ist in hohem Maße der subjektiven Beurteilung des Untersuchers unterworfen und birgt deshalb nicht

unerhebliche Fehlerquellen in sich. Eine annähernd exakte Bestimmung des Gerinnungszeitpunktes erreicht man, indem man mit einer Platinöse solange durch das Testgemisch fährt, bis das erste Fibringerinnsel haften bleibt. Eine weitere Möglichkeit, den Zeitpunkt der Koagulation objektiver zu erfassen, besteht darin, daß man in das für die Gerinnungsprobe vorgesehene Röhrchen eine kleine Glasperle gibt und das Röhrchen in Schrägstellung rotieren läßt. Endpunkt der Gerinnungszeitmessung ist der Moment, in dem die Perle durch das sich bildende Fibringerinnsel fixiert wird. Von SCHNITGER und GROSS (1954) wurde ein "Coagulometer" entwickelt. Bei diesem Gerät greift ein maschinell auf und ab bewegtes Platin-Iridium-Häkchen einmal pro Sekunde in die auf ihre Gerinnungszeit zu untersuchende Flüssigkeit. Sobald sich Fibrin gebildet hat, wird auf elektromagnetischem Wege ein zu Beginn der Messung in Gang gesetztes Uhrwerk gestoppt.

Eine sehr weitgehende Objektivität bei der Feststellung des Gerinnungszeitpunktes wird auch durch die Messung mit optischen Hilfsmitteln erreicht und von vielen Untersuchern bevorzugt (KNÜCHEL u. GANTER, 1948; GEHRING, 1954; u.a.). Bei diesen Methoden wird die durch den Übergang vom Sol zum Gel, d.h. vom Fibrinogen zum Fibrin, entstehende Trübung mit einem Photometer oder Colorimeter gemessen und als Endpunkt der Gerinnungszeitbestimmung bewertet.

Bei der Auswertung der Ergebnisse des Prothrombintests ist zu berücksichtigen, daß die Aktivität der Thrombokinase mehr oder weniger großen Schwankungen unterworfen ist. Das gilt nicht nur für verschiedene Thrombokinasepräparate, auch die Aktivität der einzelnen Präparate ist nicht konstant. Aus diesem Grunde ist es abzulehnen, einfach die erzielten Sekundenwerte als Ergebnisse anzugeben und einander gegenüberzustellen. Vergleichbare Ergebnisse erhält man nur dann, wenn man die Sekundenwerte derart umrechnet, daß der Einfluß der Thrombokinase-Aktivitätsschwankungen ausgeschaltet wird. Eine Möglichkeit hierfür bietet der Prothrombinindex. Diesen erhält man, indem man die am Plasma eines oder mehrerer gesunder Tiere (Normalplasma) ermittelte Prothrombinzeit mit 100 multipliziert

und den erhaltenen Wert durch die Prothrombinzeit des zu untersuchenden Tieres dividiert:

$$\text{Prothrombinindex} = \frac{\text{Normale Prothrombinzeit} \times 100}{\text{Versuchsprothrombinzeit}}$$

Die normale Prothrombinzeit muß, wenn die Aktivitätsschwankungen der Thrombokinase ohne Einfluß auf die Ergebnisse bleiben sollen, für jede einzelne Thrombokinasesuspension neu bestimmt werden. Voraussetzung für die Vergleichbarkeit der Ergebnisse einer Versuchsreihe ist, daß zu Ermittlung der normalen Prothrombinzeit stets das Plasma des gleichen Tieres verwendet wird. Deshalb ist die Möglichkeit, die erzielten Ergebnisse mit denen anderer Autoren zu vergleichen, beschränkt. Auch ist zu bedenken, daß die Werte des einzelnen Tieres physiologischen Schwankungen unterworfen sind. Aus diesen Gründen fordert GEHRING (1954) die Ermittlung eines normalen Durchschnittswertes aus den Einzelergebnissen von etwa 10 gesunden Tieren. Wegen des großen Arbeitsaufwandes ist diese für umfangreichere oder routinemäßige Untersuchungen schwer durchführbar. Von GEHRING (1954) vorgenommene Untersuchungen an Trockenplasma und mit eingefrorenem Plasmen führten nicht zu den erhofften Ergebnissen.

Eine weitere Möglichkeit zur Erzielung reproduzierbarer Ergebnisse ist die Bestimmung des "QUICK-Wertes in Prozent". Hierfür werden abgestufte Verdünnungsreihen normaler Plasmen hergestellt und deren Gerinnungszeiten gemessen. Die Verdünnungsgrade und deren Gerinnungszeiten werden in ein Koordinatensystem eingetragen. Man erhält so eine Eichkurve, von der der "QUICK-Wert in Prozent" für jedes getestete Plasma abgelesen werden kann. Der Vorteil dieser Methode besteht darin, daß die Verdünnungskurve aus Mittelwerten einer größeren Anzahl gesunder Tiere zusammengestellt werden kann. Doch bleiben hier Schwankungen in der Aktivität der verwendeten Thrombokinase völlig unberücksichtigt, da es technisch nicht durchführbar ist, die Verdünnungsreihe für jede einzelne Thrombokinasesuspension erneut aufzustellen.

C. Der diagnostische Wert der Prothrombinbestimmung

a) Allgemeines

Wenn auch die mit der Einphasenmethode bestimmte Prothrombinzeit nach QUICK nicht der Prothrombinkonzentration proportional ist, sondern durch einen Summationseffekt (SCHWICK, 1961) zustande kommt, so wird das Einphasenverfahren wegen seiner technisch relativ einfachen Durchführbarkeit, besonders bei orientierenden Untersuchungen, doch vielfach angewandt. In der Humanmedizin erreichte der Test eine große Bedeutung bei der Kontrolle der Thromboembolie-Behandlung mit Antikoagulatien, er wird aber auch als Leberfunktionsprobe und zur Kontrolle der Gerinnungseigenschaften des Blutes vor operativen Eingriffen routinemäßig angewandt, während die Zweiphasenmethode und die modifizierte Einphasenmethode zur exakten Bestimmung einzelner Faktoren besonders bei der Diagnostik von Systemkrankheiten und hämorrhagischen Diathesen, aber auch zur speziellen Leberdiagnostik Verwendung finden. Der Wert der einphasigen Prothrombinzeitbestimmung nach QUICK wird in der humanmedizinischen Literatur unterschiedlich beurteilt. Die Einphasenmethode wird von BURUIANA und RAUCHBACH (1956) gerade deshalb bevorzugt, weil bei dieser Technik der Einfluß der Akzeleratoren mit eingeschlossen ist. Auch SCHWICK (1961) hebt hervor, daß dieser Gruppentest häufig die Durchführung zeitraubender spezifischer Prüfungsverfahren erspart. Zu beachten ist jedoch, daß die einzelnen Gerinnungsfaktoren die Prothrombinzeit nicht gleichmäßig beeinflussen. So wirken sich Konzentrationsminderungen des Faktors VII auf die Prothrombinzeit stärker aus als solche von Prothrombin oder Faktor V. Hochgradige Abnahme der Fibrinogenkonzentration führt ebenfalls zur Verlängerung der Prothrombinzeit (SCHMID, 1951; JÜRGENS u. BELLER, 1959).

Die Bestimmung der Gerinnungszeit im Gruppentest erweist sich häufig gegenüber der isolierten Bestimmung der einzelnen Gerinnungsfaktoren als weniger empfindliche Methode. Die Prothrombinzeit ist bei der Hepatitis epidemica

des Menschen fast immer normal, während die isolierte Bestimmung von Prothrombin und Faktor VII stark verminderte Werte ergibt (JÜRGENS u. BELLER, 1959). Demgegenüber ergab die Untersuchung der einzelnen Gerinnungsfaktoren bei 90 Fällen von akuter und chronischer Urämie des Menschen mit Blutungen in der Haut und den Schleimhäuten nur geringgradige Abweichungen, während die Globalbestimmung stark pathologische Werte erbrachte. Die Summierung verschiedener unterschwelliger Gerinnungsstörungen ist als Grund für diese Ergebnisse anzusehen (GROSS u. Mitarb., 1959).

Auf veterinärmedizinischem Gebiet wurde die Mehrzahl der Prothrombinbestimmungen bisher mit der Einphasenmethode nach QUICK durchgeführt. Umfangreichere Ergebnisse liegen bisher nur von Untersuchungen an Hundeplasma vor, während Gerinnungsbestimmungen bei anderen Tierarten erst in geringer Zahl veröffentlicht wurden.

Auch an Tierplasmen wurden vergleichende Untersuchungen über die Empfindlichkeit verschiedener Gerinnungstests vorgenommen. Bei Versuchen an 123 kranken Hunden stellte PINKIEWICZ (1961) die Bestimmung der Prothrombinzeit den Resultaten der Bestimmung der einzelnen Gerinnungsfaktoren (Prothrombin, Faktor V, Faktor VII) gegenüber. Die Prothrombinzeit wich in 20,32 %, Prothrombin in 14,64 %, Faktor V in 15,44 % und Faktor VII in 25,20 % der Fälle von der Norm ab. Somit erwies sich die isolierte Bestimmung des Faktors VII als empfindlichste Probe; die isolierte Testung des Prothrombins brachte dagegen die geringsten Resultate. Für den Faktor V waren bei sporadischen Fällen mit ungünstigem Verlauf besonders niedrige Werte zu erzielen. PINKIEWICZ hält die getrennte Bestimmung aller Faktoren der ersten Gerinnungsphase für notwendig, nicht zuletzt im Hinblick auf prognostische Aussagen. Verlängerte Prothrombinzeiten erhielt GEHRING (1954) mit der Einphasentechnik bei 7 Rindern im postoperativen Stadium, während das mit der Zweiphasenmethode bestimmte Prothrombin bei den gleichen Tieren nur in einem Fall mit gestörtem postoperativem Verlauf vermindert war.

Dem Nachweis der Aktivitätsminderung der einzelnen Kofaktoren bei durch Parenchymschäden der Leber bedingten Hypoprothrombinämien mißt GORIŠEK (1958) keine besondere Bedeutung bei, da ihr Blutspiegel ebenfalls von der Funktionstüchtigkeit der Leber abhänge.

b) Gerinnungstests beim Menschen

Leberparenchymschädigungen können beim Menschen zur Verminderung der Gerinnungskomponenten Prothrombin, Fibrinogen sowie der Faktoren V, VII, VIII, IX und X führen. Aber nicht jede Leberparenchymschädigung führt zum Abfall aller genannten Faktoren. Bis zu einem gewissen Grade kann auf Grund der Bestimmung der einzelnen Komponenten auf den Grad der Schädigung geschlossen werden.

Empfindlichste Anzeichen für eine Schädigung des Leberparenchyms ist Faktor-VII-Mangel. Ebenso führen schon geringgradige Leberfunktionsstörungen zum Abfall des Faktors X. Das isoliert bestimmte Prothrombin kann bei schwerer akuter Hepatitis bis zu 40 % der Normalkonzentration vermindert sein. Deutlich erniedrigte Werte für das isolierte Prothrombin werden auch bei chronischer Hepatitis, Lebercirrhose, chronischem Verschluß der Gallengänge und akuter gelber Dystrophie gefunden. PERLICK (1951) fand das mit der Zweiphasenmethode bestimmte Prothrombin bei 50 Patienten mit Leberparenchymschäden in jedem Falle verringert. Verminderung von Fibrinogen, Faktor V, Faktor VIII und Faktor IX deutet auf eine schwere Leberparenchymschädigung hin (JÜRGENS u. BELLER, 1959). Der Abfall des Faktors V im Verlauf einer schweren Hepatitis ist als prognostisch besonders ungünstig anzusehen (HEINRICH, 1957). Die Prothrombinzeit nach QUICK ist auch bei Verminderung einzelner, an ihrem Zustandekommen beteiligter Faktoren nicht selten normal und stellt deshalb eine weniger empfindliche Methode dar, als es die isolierte Bestimmung einzelner Faktoren ist. Stark verlängerte QUICK-Zeit weist jedoch auf eine erhebliche diffuse Leberparenchymschädigung hin. Zu besonders niedrigen QUICK-Werten führt die akute gelbe Dystrophie der Leber (QUICK, 1938; JÜRGENS u. BELLER, 1959).

Neben primären Hepatopathien können auch andere Erkrankungen des Menschen durch sekundäre Leberschädigung zur Verminderung der Gerinnungsfaktoren führen. Als Ausdruck der Leberschädigung treten bei Scharlach, Diphterie und infektiöser Mononukleose häufig die gleichen Gerinnungsstörungen auf wie bei der Hepatitis epidemica. Herz- und Niereninsuffizienzen haben Prothrombin- und Faktor-VII-Verminderung zur Folge. Weitere Ursachen für den Abfall der Prothrombinkonzentration sind Störungen der Vitamin-K-Resorption im Verlauf schwerer entzündlicher Darmerkrankungen (JÜRGENS u. BELLER, 1959).

Auch Lungentuberkulose verursacht Hypoprothrombinämie bei gleichzeitigem Mangel an Faktor V und VII. Den Prothrombinindex fand SCHMID (1951) bei prognostisch unsicheren Fällen der Lungentuberkulose auf durchschnittlich 86 % und bei progredienten Phtisen auf im Mittel 65 % erniedrigt. Demgegenüber war der Prothrombinindex bei Lungentuberkulosefällen mit Proliferationstendenz auf durchschnittlich 121 % als Ausdruck einer Gerinnungsfaktorenvermehrung (Hyperkoagulämie) erhöht.

Hyperkoagulämien können auch durch Cholangitis und durch akute Formen des Verschlußikterus hervorgerufen werden (JÜRGENS u. BELLER, 1959).

c) Die Prothrombinbestimmung beim Hund

In Tabelle 3 sind die Erkrankungen des Hundes aufgeführt, bei denen nach Angaben in der Literatur Verlängerungen der Prothrombinzeit festgestellt wurden.
In der Mehrzahl der angegebenen Fälle handelt es sich um primäre oder sekundäre Hepatopathien. Keiner der Autoren konnte bei allen Patienten Prothrombinverminderungen beobachten. Vermindertes Prothrombin ermittelten BALKO (1956) bei 22 von 38, SCHNEIDER (1957) bei 14 von 22, MÜLLER (1958) bei 16 von 51, MÜLLER (1959) bei 22 von 57 und LETTOW (1960) bei 45 von 57 Hunden mit Leberschäden. Bei den Bestimmungen der Faktorenwerte der ersten Gerinnungsphase an 123 kranken Hunden fand PINKIEWICZ (1961)

Tabelle 3

Erkrankungen des Hundes, bei denen Hypoprothrombinämien festgestellt wurden

Leberzellschädigung	BRÖSSNER, 1948; BALKO, 1956; LETTOW, 1958
Leberdegeneration	FREUDIGER, 1954; SCHNEIDER, 1957; LETTOW, 1960
Hepatocellulärer Ikterus	FREUDIGER, 1954; MÜLLER, 1959; PINKIEWICZ, 1961
Okklusionsikterus	FREUDIGER, 1954; PINKIEWICZ, 1961
Hepatitis	LETTOW, 1960
Lebercirrhose mit wesentlichem Parenchymschaden	FREUDIGER, 1954; SCHNEIDER, 1957; MÜLLER, 1959; LETTOW, 1960
Stauungsleber	LETTOW, 1960
Hepatogen bedingter Ascites	FREUDIGER, 1954; BALKO, 1956; SCHNEIDER, 1957; PINKIEWICZ, 1961
Infiltrativ zellige Wucherungen in der Leber	SCHNEIDER, 1957
Blastome	LETTOW, 1960
Generalisierte Sarkome und Carcinome	SCHNEIDER, 1957
Abdominaltumoren	SCHNEIDER, 1957
Osteosarkome	BRÖSSNER, 1948
Lymphadenosen	FREUDIGER, 1954; MÜLLER, 1959; LETTOW, 1960; PINKIEWICZ, 1961
Tuberkulose	BRÖSSNER, 1948 LETTOW, 1960
Leptospirose	FREUDIGER, 1954; MÜLLER, 1959; PINKIEWICZ, 1961
Schwere Magen- und Darmerkrankungen	BRÖSSNER, 1948; FREUDIGER, 1954
Hämorrhagische Diathesen	SCHNEIDER, 1957
Phosphor-und Thalliumvergiftung	BRÖSNER, 1948
Tetrachlorkohlenstoffintoxikation	LETTOW, 1960
Rachitis	BRÖSSNER, 1948

nur in 31 Fällen Werte, die außerhalb der physiologischen Grenzen lagen.

Der Grad der Prothrombinverminderung kann von der Stärke des Leberschadens abhängig und dann besonders intensiv sein, wenn es sich um eine schwere Schädigung diffuser Natur handelt. Nicht selten ist die Gerinnungszeit aber auch bei schweren Störungen normal (MÜLLER, 1959). Relationen zwischen der Stärke der pathologisch-histologischen Veränderungen und dem Abfall der Plasma-Prothrombinkonzentration beim Hund wies FREUDIGER (1954) nach. Diese Ergebnisse konnten von BALKO (1956) nicht bestätigt werden. Nach Angaben von SCHNEIDER (1957) gibt der Prothrombinwert Aufschluß über die Schwere der Erkrankung bei infiltrativ-zelligen Wucherungen in der Leber (Lymphadenosen; generalisierte Carcinome; Sarkome und Tuberkulose). Wie bereits erwähnt, kann die Einzelbestimmung der Gerinnungsfaktoren prognostische Aussagen ermöglichen. Bei Fällen mit ungünstigem Verlauf sind die Werte für den Faktor V besonders niedrig (PINKIEWICZ, 1961).

Obwohl die Prothrombinbestimmung nur eine Teilfunktion der Leber umfaßt, ermöglicht sie in vielen Fällen wichtige Rückschlüsse auf den allgemeinen Funktionszustand (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952). Der Vergleich der Prothrombinbestimmung mit anderen Tests (Bromsulphalein-Test, Serum- und Harnbilirubin, Takata-Reaktion) beim Hund ergibt die Notwendigkeit der Durchführung möglichst vieler Leberfunktionsproben (MÜLLER, 1959). In 3 von 57 Fällen konnte die Autorin mit der Prothrombinzeitbestimmung Leberschäden diagnostizieren, die durch andere Untersuchungsmethoden nicht ermittelt wurden.

Die Bestimmung der Prothrombinzeit kann für die Differentialdiagnose des Ikterus herangezogen werden. Wird eine ikterisch bedingte verlängerte Prothrombinzeit nach Vitamin-K-Applikation normal, so liegt ein Stauungsikterus vor. (Vitamin-K-Test nach KOLLER, 1941) Diese in der Humanmedizin mit Erfolg (besonders im Anfangsstadium) angewandte Methode (WUHRMANN u. WUNDERLY, 1952) ist auch für

die Unterscheidung des Ikterus beim Hund geeignet (SCHNEIDER, 1957). SCHNEIDER gibt außerdem für den Stauungsikterus beim Hund niedrigere Werte der Prothrombinkonzentration an als für parenchymatös bedingte Gelbsucht.

Die Bestimmung der Prothrombinzeit ermöglicht es auch, hepatogen bedingten Ascites des Hundes von anders entstandenem zu unterscheiden (FREUDIGER, 1954; BALKO, 1956; SCHNEIDER, 1957; PINKIEWICZ, 1961). Jedoch beschreibt MÜLLER (1959) auch Fälle von Ascites infolge Leberschädigung, bei denen keine Verlängerung der Prothrombinzeit festzustellen war.

d) Die Prothrombinbestimmung beim Pferd

Von GORIŠEK (1958) durchgeführte Untersuchungen an 108 Pferden mit Lebererkrankungen ergaben, daß die Prothrombinzeitbestimmung und die Ermittlung des Prothrombinrückstandes im Serum geeignete Methoden für die Leberdiagnostik bei diesen Tieren sind. GORIŠEK fand bei akuter Hepatitis, chronisch-interstitieller Leberentzündung und bei Parenchymschädigungen mit und ohne Regeneration den Prothrombinspiegel im Plasma bis auf 60 % vermindert. Eine noch stärkere Senkung der Prothrombinkonzentration trat bei akuter hämorrhagischer Dystrophie, gelber Atrophie, Nekrose und fettiger Degeneration der Leber auf. Der Grad der Prothrombinverminderung war weitgehend von der Schwere des Leberschadens abhängig, so daß die Bestimmung der Prothrombinzeit prognostische Schlüsse ermöglichte. Als noch empfindlichere Methode erwies sich die Erfassung des Prothrombinrückstandes im Serum. Unterschiedliche Prothrombinwerte während der verschiedenen Phasen des Sexualzyklus beim Pferd konnte GEHRING (1954) nicht nachweisen, charakteristisch erscheinende Schwankungen lagen innerhalb der normalen Schwankungsbreite.

e) Die Prothrombinbestimmung beim Rind

GEHRING (1954) erhielt auch beim Rind keine eindeutig von bestimmten Zyklusphasen abhängige Werte bei der Prothrom-

binbestimmung mit der Ein- und Zweiphasenmethode. Auch die von ihm ermittelten Prothrombinwerte während des Trächtigkeitsverlaufs und bei verschiedenen Milchleistungen zeigten keine eindeutigen Unterschiede. GEHRING hebt die großen Streuungsbreiten hervor, die er bei Prothrombinzeitbestimmungen an 50 klinisch gesunden Rindern erhielt. Die quadratische Abweichung vom Mittelwert betrug 18,28 % für die Bestimmungen mit der Einphasenmethode. Etwas niedriger lagen die Werte bei der Zweiphasenmethode (17,29 %). Wie bereits erwähnt, ermittelte GEHRING bei Gerinnungstests im postoperativen Verlauf nach Fremdkörperoperationen mit der Einphasenmethode Prothrombinindices, die eindeutig außerhalb der physiologischen Schwankungsbreiten lagen. Die Werte waren auch dann erniedrigt, wenn keine Störungen im Heilungsablauf eintraten. Beträchtliche Verkürzungen der Gerinnungszeit beobachtete LENZ (1959) am rekalzifizierten Plasma bei 29 brünstigen und 5 trächtigen Kühen sowie bei einem Rind mit großzystischer Entartung der Ovarien. Auch der mit dem Photometer gemessene Fibrinogengehalt des Plasmas war bei diesen Tieren stark erhöht. Ohne Einfluß auf die Gerinnungszeit erwiesen sich Alter, Rasse und klimatische Einflüsse.

LENZ-DOROSCHKIN (1955) bestimmte bei gesunden Rindern mit der QUICK-Methode Prothrombinindices zwischen 87 und 113 %.

Der Wert der einphasigen Prothrombinzeitbestimmung mit unverdünntem und verdünntem Plasma als Leberfunktionsprobe prüfte STAMATOVIC (1953). Es gelang ihm, mit der Bestimmung der Prothrombinzeit am verdünnten Plasma (50- und 75-prozentige Verdünnung) Leberschäden bei Rindern aufzudecken, die durch den Gerinnungstest am unverdünnten Plasma nicht zu erkennen waren. Bei hepatozellulärem Ikterus erhielt STAMATOVIC in jedem Fall, auch bei unverdünntem Plasma, verlängerte Prothrombinzeiten, während bei geringgradigen hepatischen Läsionen im unverdünnten Plasma keine Veränderung der Gerinnungszeit zu ermitteln war. Verlängerte Prothrombinzeiten maß STAMATOVIC auch bei klinisch festgestelltem Darmkatarrh und bei

Pericarditiden. Ohne Einfluß auf die Prothrombinwerte zeigten sich Reticuloperitonitis traumatica, Indigestionen, Darminvagination und Futterausschlag.

Verlängerte Prothrombinzeiten bei an Distomatose erkrankten Rindern beobachteten MAGLAJLIC und Mitarbeiter (1959).

QUICK (1937) ermittelte Hypoprothrombinämie als Ursache für die bei Rindern nach Aufnahme von verdorbenem Süßklee entstehenden hämorrhagischen Diathesen ("Sweet Clover Disease"). Mit dem Vitamin-K-Test gelang es BODA (1959), die hypovitaminös bedingte Herabsetzung der Prothrombinkonzentration von der hepatogen verursachten zu unterscheiden.

Auf Grund der bisherigen Veröffentlichungen im veterinärmedizinischen Schrifttum kann zusammenfassend gesagt werden, daß der Prothrombinbestimmung für die Leberdiagnostik beim Hund Bedeutung zukommt. Gleichzeitig sind jedoch noch möglichst zahlreiche weitere Leberfunktionsproben durchzuführen, da der Gerinnungstest, wie auch andere Untersuchungsmethoden, nur einen Teil der Leberschäden aufdeckt.

Ob die Prothrombinbestimmung beim Pferd und Rind als Leberfunktionsprobe geeignet ist, kann anhand der bisherigen Ergebnisse nicht abschließend beurteilt werden, es bedarf dazu weiterer Untersuchungen.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A. Untersuchungsmaterial und Untersuchungsmethoden

Die vorliegenden Untersuchungen wurden an insgesamt 102 Rindern durchgeführt. Sie galten der Frage, welchen Wert die papierelektrophoretische Serumeiweißanalyse, die Bestimmungen von Gesamteiweiß im Serum und Plasma-Prothrombin und die Takata-Reaktion für die klinische Leberdiagnostik beim Rind haben.

Die Ermittlung der Normalwerte und physiologischen Abweichungen erfolgte durch Untersuchungen an 20 klinisch gesunden Schlachtrindern, bei denen nach der Schlachtung keine pathologisch-anatomischen Veränderungen, insbesondere der Leber, zu erkennen waren. Die rein methodisch bedingten Abweichungen wurden aus den durch Mehrfachbestimmungen an 2 klinisch gesunden Versuchsrindern erhaltenen Ergebnissen errechnet.

Die Versuche über die Brauchbarkeit der genannten Laboruntersuchungen für die Leberdiagnostik beim Rind wurden an 76 ausgewählten Schlachtrindern mit vorwiegend chronischen Leberschäden sowie an 4 experimentell mit Tetrachlorkohlenstoff akut lebergeschädigten Versuchsrindern vorgenommen.

a) Serum- und Plasmagewinnung

Zur S e r u m - Gewinnung wurde das aus der Vena jugularis entnommene und in Zentrifugenröhrchen aufgefangene Blut zunächst für ca. 30 Minuten im Brutschrank bei 37°C aufbewahrt und anschließend 10 Minuten lang bei 3000 U/Min. zentrifugiert. Danach wurde das überstehende Serum vorsichtig in Reagenzgläser abgegossen und bis zur Durchführung der Analysen im Kühlschrank aufbewahrt.

Für die P l a s m a - Gewinnung wurden jeweils 8 ml Blut unmittelbar nach der Entnahme aus der Vena jugularis mit 2 ml steriler, 3,8 %iger Natrium-Citrat-Lösung gemischt.

Dafür wurden sterile, auf 10 ml geeichte und mit Gummistopfen versehene Zentrifugengläser verwendet, in die vor der Blutentnahme die Natrium-Citrat-Lösung pipettiert worden war. Das Citratblut wurde 7 Minuten lang bei 1700 U/Min zentrifugiert, anschließend das Plasma abpipettiert und bis zur Vornahme der Bestimmungen im Kühlschrank aufbewahrt.

b) Papierelektrophoretische Bestimmung der Serumeiweißfraktionen

Die papierelektrophoretische Trennung der Serumproteine wurde mit der Elektrophoreseapparatur FB II der Firma Franz Bergmann KG durchgeführt. Die Elektrophoresekammer dieser Apparatur ist nach dem von DURRUM (1950) und WUHRMANN u. WUNDERLY (1952) angegebenen Prinzip der zeltförmigen Aufhängung des Filterpapierstreifens konstruiert. Die luftdicht abschließende Haube aus durchsichtigem Kunststoff ermöglicht die Elektrophorese in feuchter Kammer. Die Einrichtung des Stromversorgungsgerätes läßt ein wahlweises Arbeiten unter spannungs- oder stromkonstanten Bedingungen zu. Als Puffer wurde für die vorliegenden Untersuchungen eine Veronal-Natrium-Lösung (Ionenstärke 0,052) verwendet:

Veronal-Natrium		10,8 g
Aqua dest.	ad	1000 ml

Die Auftrennung erfolgte unter einer Spannung von 260 V und einer Stromstärke von ca. 1 mA/cm Streifenbreite bei einer Laufzeit von 6 Stunden bei Raumtemperatur.

Als Trägermedium für die Elektrophorese kamen Filterpapierdoppelstreifen der Firma Macherey und Nagel Nr. 214 zur Anwendung.

Für die Durchführung der Elektrophorese wurde je 0,01 ml Serum in 2 cm Breite mit einer Spezialpipette gleichmäßig und unter Vermeidung der Aufrauhung des Papiers quer zur Wanderungsrichtung auf den Filterpapierstreifen aufgetragen. Die Startlinien wurden vor dem Auftragen der Serumprobe so eingezeichnet, daß beiderseits eine Randzone von 1 cm frei blieb.

Nach WUHRMANN und WUNDERLY (1952) trägt man das Serum genau in der Streifenmitte auf, so daß die Auftragestelle nach dem Einbringen in die Kammer genau auf dem Gipfelpunkt liegt. Es erwies sich jedoch als zweckmäßig, das Serum 6 cm von der Streifenmitte entfernt aufzutragen. In Vorversuchen wurde festgestellt, daß bei diesem Verfahren eine bessere Auftrennung zu erreichen ist. Die Wanderung der Proteine wird durch den Haltesteg am Gipfelpunkt nicht behindert. Unmittelbar nach dem Auftragen des Serums wurde jeder Streifen mit Pufferlösung getränkt und anschließend zwischen Filterpapierbogen vorsichtig soweit getrocknet, daß die Oberfläche desselben nicht mehr glänzte. Anschließend wurden die Streifen dachförmig in die Kammer eingehängt und die Streifenenden leicht an die in den Puffergefäßen befindlichen Stege angestrichen.

Nach Ablauf der Trennzeit wurden die Streifen sofort aus der Kammer herausgenommen, zwischen Filterpapierstreifen unter leichtem Druck vorgetrocknet und im vorgeheizten Wärmeschrank bei 110° C 20 Minuten lang getrocknet.

Zur Färbung wurden die getrockneten Streifen 25 Minuten lang in eine Neucoccin-Lösung nachstehender Zusammensetzung gebracht:

Methanol (acetonfrei)	500 ml
Aqua dest.	400 ml
Acidum aceticum glac.	100 ml
Neucoccin	1 g

Die Entfärbung der Streifen erfolgte nach kurzer Abspülung mit Aqua dest. in einem Entfärbebad obiger Zusammensetzung, jedoch ohne Neucoccin-Zusatz, innerhalb von 2 1/2 Stunden. Die Entfärbelösung wurde alle 30 Minuten gewechselt. Nach der Entfärbung wurden die Streifen wiederum im Trockenschrank bei 110° C getrocknet.

Die Auswertung der Elektrophoresestreifen wurde mit dem automatischen Registrierphotometer "Fraktograph FB III" der Firma Franz Bergmann KG vorgenommen. Die Messung erfolgt bei diesem Gerät mit Hilfe eines Spaltphotometers

im Durchlicht. Der Meßspalt hat eine Länge von 15 mm und eine Breite von 1 mm. Die Vorschubgeschwindigkeit beträgt 5 cm pro Minute. Die Registrierung der von der Photozelle gelieferten Meßwerte geschieht durch einen Kompensationsschreiber. Das Gerät ist für lineare Durchlässigkeit und lineare Extinktion eichbar. Eine weitere Eichmöglichkeit, die für verschiedene Farbstoffe und Trägermedien beliebig einstellbar ist, gestattet die Aufzeichnung konzentrationslinearer Kurven. Die Eichung erfolgt an einem Funktionspotentiometer, das die Darstellung beliebiger Kurvenfunktionen ermöglicht. Für diese Eichung ist die Aufstellung einer Eichkurve erforderlich, deren Werte auf sechs Eichpunkte des Potentiometers übertragen werden können.

Zum Zwecke der Eichkurvenermittlung werden von einer Serumverdünnungsreihe bekannter Eiweißkonzentration je 0,05 ml mit einer Pipette nebeneinander auf einen Filterpapierstreifen aufgetragen und gefärbt. Färbemethodik und Filterpapier müssen dieselben sein, die nachher bei der Elektrophorese angewendet werden. Nach der Anfärbung des Eichstreifens wird die Durchlässigkeit in % für die einzelnen Eiweißflecken im "Fraktograph" gemessen. Die Eichkurve ergibt sich aus den Beziehungen der registrierten prozentualen Durchlässigkeiten zu den entsprechenden Eiweißdichten pro cm^2.

Bei der Auswertung der Elektrophoresestreifen erübrigt sich die Transparentmachung, da die Gesetzmäßigkeit der optischen Dichte auf dem diffus streuenden Filterpapier bei der Eichung des "Fraktograph" mit erfaßt wird.

Die Registrierung der Fraktionierungskurven erfolgt durch einen Tintenschreiber auf Millimeterpapier. Gleichzeitig zeichnet ein zweiter Schreiber, der von einem elektrischen Integrator gesteuert wird, eine Zackenlinie auf, die die Flächenwerte unterhalb des Kurvenverlaufs angibt. Nach der Unterteilung der Gradientenkurve in die einzelnen Fraktionen durch Extrapolation der den Fraktionen entsprechenden Gauß-Kurven wird das Lot von den Schnittpunkten derselben auf die parallel geschriebene Integratorlinie gefällt.Nach Auszählung der den einzelnen Fraktionen

zugehörenden Integratorzacken ergibt sich aus der Umrechnung der Flächeneinheiten in Prozentwerte die relative Verteilung der Serumeiweißfraktionen.

Für die vorliegenden Untersuchungen wurden von jedem Serum 2 Proben auf einem Doppelstreifen aufgetrennt. Die angegebenen relativen Serumeiweißwerte sind die aus den Doppelbestimmungen resultierenden Mittelwerte.

Die für jedes Tier außerdem angegebenen absoluten Konzentrationen in g pro 100 ml Serum (g%) für die einzelnen Proteinfraktionen wurden anhand der relativen Serumeiweißwerte und des gleichzeitig bestimmten Gesamteiweißgehalts rechnerisch ermittelt.

c) Serum-Gesamteiweißbestimmung

Die Gesamteiweißbestimmungen wurden nach einer von TEPE (1958) beschriebenen Methode, die auf der Biuretreaktion beruht, durchgeführt. Als Reagenzien wurden dafür benötigt:

1. Biuretreagens, bestehend aus:

Kupfersulfat	5 g
Kaliumjodid	5 g
Kalium-Natrium-Tartrat	9 g
0,2 n Natronlauge	ad 1000 ml

2. Physiologische Kochsalzlösung, bestehend aus:

Natriumchlorid	9 g
Aqua dest.	ad 1000 ml

Zur Durchführung der Gesamteiweißbestimmung werden 4,9 ml physiologische Kochsalzlösung mit 0,1 ml Serum gemischt und 5,0 ml Biuretreagens hinzugegeben. Dann wird eine Vergleichslösung hergestellt, die aus 5,0 ml physiologischer Kochsalzlösung und 5,0 ml Biuretreagens besteht. Beide Lösungen läßt man genau 30 Minuten bei Zimmertemperatur stehen.

Die Messung erfolgt in einem elektrischen Colorimeter (Elko II der Fa. Zeiß). Man mißt in Küvetten mit 2 cm

Schichtdicke unter Verwendung des Filters S 55 E die Analysenlösung gegen die Vergleichslösung.
Die Serumproteinkonzentration wird wie folgt berechnet:

Extinktion (E) x 16,7 = g Eiweiß/100 ml Serum

d) Takata-Reaktion

Die Ausführung der Takata-Reaktion erfolgte in der Modifikation nach MANCKE und SOMMER (1936) in der von HALLMANN (1958) beschriebenen Technik. Bei diesem Verfahren wird mit konstanten Serummengen und abgestuften Sublimatkonzentrationen gearbeitet. Für die Durchführung der Reaktion werden benötigt:

Sublimatlösung	0,25 %ig
Natriumchloridlösung	0,9 %ig
Natriumcarbonatlösung	10,0 %ig

In 11 Reagenzröhrchen werden je 0,1 ml Serum mit steigenden Mengen physiologischer (0,9 %iger) Kochsalzlösung vermischt. Dazu werden je 0,4 ml Natriumcarbonatlösung (10 %ig) und 0,25 %ige Sublimatlösung in abfallender Menge gegeben:

Röhrchen		1	2	3	4	...	8	9	10	11
Serum	ml	0,1	0,1	0,1	0,1	...	0,1	0,1	0,1	0,1
NaCL 0,9 %ig	ml	0,8	0,9	1,0	1,1	...	1,5	1,6	1,7	1,8
Na_2CO_3 10 %ig	ml	0,4	0,4	0,4	0,4	...	0,4	0,4	0,4	0,4
$HgCl_2$ 0,25 %ig	ml	1,2	1,1	1,0	0,9	...	0,5	0,4	0,3	0,2
Sublimatkonzentration in mg%:		120	110	100	90	...	50	40	30	20

Die Ablesung der Reaktion wird nach 24 Stunden vorgenommen. Es wird das Röhrchen festgestellt, in dem eben noch Flokkung aufgetreten ist. Die Sublimatkonzentration dieses Röhrchens, die als geringste noch zur Flockung führt, wird als Grenzkonzentration bezeichnet. Als pathologisch sind solche Grenzkonzentrationen zu bewerten, die unterhalb der niedrigsten an Normalseren ermittelten Grenzkonzentration liegen.

e) Prothrombinbestimmung

Bei den Untersuchungen für die vorliegende Arbeit kam die Einphasenmethode von QUICK (1935) modifiziert nach "GEIGY" zur Anwendung. Folgende Reagenzien wurden zur Ausführung des Tests benötigt:

Thrombokinase "GEIGY" (kalziumhaltig)
Natrium-Citrat-Lösung, steril, 3,8 %ig

Die Thrombokinase "GEIGY" zeichnet sich durch hohe Aktivität, geringe Aktivitätsschwankungen, Lagerbeständigkeit (bei Zimmertemperatur) und schlagartige Herbeiführung des Gerinnungseintritts aus (MONTIGEL u. PULVER, 1952).

Bei der Durchführung des einphasigen Gerinnungstests nach QUICK erfaßt die Thrombokinase "GEIGY" das Prothrombin und den Faktor X besonders empfindlich, während der Faktor VII die Gerinnungszeit bei der Verwendung dieses Thrombokinasepräparates am wenigsten beeinflußt (JÜRGENS u. BELLER, 1959).

Da der Thrombokinase "GEIGY" Kalziumsalz beigemengt ist, erübrigt sich die bei anderen Verfahren notwendige Herstellung einer Kalziumchloridlösung. Der Kalziumgehalt des Präparats ist so eingestellt, daß die Kalziumkonzentration in der fertigen Suspension 0,18 % $CaCl_2$ entspricht. Zur Herstellung der Thrombokinasesuspension wird eine Tablette des Präparats in einem starkwandigen Reagenzglas mit einem Glasstab sorgfältig zerdrückt, bis man ein feines Pulver erhält. Das Pulver wird zunächst mit 2 Tropfen Aqua bidest. zu einer gleichmäßigen Paste verrührt, die dann in 2,5 ml Aqua bidest. suspendiert wird.
Die Suspension wird anschließend 15 Minuten lang in einem Konstantwasserbad von 37° C inkubiert, ist dann gebrauchsfertig und kann bis zu ihrer Verwendung im Kühlschrank aufbewahrt werden.

Zur Durchführung des Prothrombintests werden 0,1 ml Plasma in ein Reagenzröhrchen von 0,5 mm Durchmesser pipettiert, 2 Minuten lang im Wasserbad auf 37° C erwärmt und anschließend 0,2 ml ebenfalls auf 37° C erwärmte Thrombo-

kinasesuspension dazugegeben. Es erscheint zur Vermeidung einer Abkühlung der Suspension zweckmäßig, die Pipette im Wärmeschrank auf 37° C zu erwärmen. Durch kräftiges Ausblasen der Suspension kann eine gute Durchmischung mit dem Plasma erreicht werden.
Gleichzeitig wird eine Stoppuhr in Gang gesetzt, das Röhrchen - wie von GEHRING (1954) beschrieben - in ein "Medico-Colorimeter" der Fa. Dr. B. Lange gebracht und die Zeit bis zum Eintritt der Gerinnung, d.h. bis zum Zeigerausschlag gemessen. Im Meßschacht dieses Geräts besteht eine durchschnittliche Temperatur von 36,6° C, so daß die Gefahr einer wesentlichen Abkühlung und damit des Auftretens von Fehlergebnissen nicht vorliegt.

Jede Bestimmung wurde dreifach ausgeführt und dann der Mittelwert errechnet. Zur Erzielung von vergleichbaren Werten wurde anschließend der Prothrombinindex ermittelt. Die für die Berechnung des Index erforderliche normale Prothrombinzeit wurde am Plasma eines ständig zur Verfügung stehenden klinisch gesunden Versuchsrindes bestimmt

f) Methodisch bedingte Abweichungen

Jede Bestimmungsmethode unterliegt gewissen unvermeidbaren Fehlern. Vor der Auswertung von Untersuchungsergebnissen ist es deshalb notwendig, die Größe des methodischen Fehlers festzustellen.

Methodisch bedingte Streuungen werden bestimmt, indem man die mittlere Abweichung vom Mittelwert aus den erzielten Werten einer Versuchsreihe errechnet, bei der unter idealen Untersuchungsbedingungen alle Einzelergebnisse absolut gleich sein müßten.

Den Mittelwert (M) erhält man durch Summierung aller Einzelwerte einer Versuchsreihe und anschließende Division durch die Anzahl der Einzelergebnisse(n):

$$M = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \ldots\ldots x_n}{n}$$

Zur Berechnung der mittleren oder quadratischen Abweichung (σ) werden die Einzelabweichungen vom Mittelwert ins Quadrat erhoben. Die Summe der Quadrate wird durch (n-1) geteilt und das Ergebnis radiziert:

$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{(M-x_1)^2 + (M-x_2)^2 + (M-x_3)^2 + (M-x_4)^2 + .. (M-x_n)^2}{(n-1)}}$$

Für die Ermittlung der methodischen Fehlergrößen bei der P a p i e r e l e k t r o p h o r e s e von Rinderserum wurde das Serum eines Versuchsrindes vierzehnmal aufgetrennt und ausgewertet. Die dabei ermittelten Einzelwerte und die errechneten Streuwerte sind in Tabelle 4 aufgeführt.

Die methodisch bedingte Streuungsbreite für die P r o t h r o m b i n z e i t b e s t i m m u n g wurde auf Grund der Ergebnisse von zwei Versuchsreihen ermittelt. In jeder dieser Bestimmungsserien wurde die Prothrombinzeit vom Plasma eines Versuchsrindes sechzehnmal hintereinander bestimmt. Die Ergebnisse dieser Gerinnungsmessungen und die daraus resultierenden Streuungsbreiten sind in Tabelle 5 wiedergegeben.

Tabelle 4

Methodisch bedingte Abweichungen bei der vierzehnfachen papierelektrophoretischen Auftrennung eines Rinderserums

Albumin rel.%	α-Globulin rel.%	ß-Globulin rel.%	γ-Globulin rel.%
38,6	12.3	10,4	38,6
37,5	15,6	12,5	34,4
42,4	13,2	10,6	33,8
34,8	13,9	13,9	37,4
36,5	14,8	12,2	36,5
40,8	11,9	10,5	36,8
39,3	13,3	9,8	37,6
39,5	15,5	9,3	35,6
41,9	11,1	9,5	37,6
40,7	13,3	9,7	36,3
41,5	13,2	10,1	35,3
35,5	13,3	12,4	38,9
40,5	14,4	9,2	36,0
38,8	13,5	12,2	35,5
M = 39,2	13,5	10,9	36,4
σ = ± 2,38	± 1,28	± 1,48	± 1,49

Maximale Abweichungen:

+ 3,2	+ 2,1	+ 3,0	+ 2,5
- 4,4	- 2,4	- 1,7	- 2,6

Tabelle 5

Methodisch bedingte Abweichungen bei der achtzehnfachen Bestimmung der Prothrombinzeit von 2 Rinderplasmen

Plasma 1	Plasma 2
15,4 Sekunden	18,5 Sekunden
15,1	18,7
15,9	18,5
15,0	17,9
15,8	18,4
15,1	18,7
15,5	19,1
14,9	18,7
15,0	19,0
15,1	18,7
16,0	18,9
15,2	18,5
15,6	19,2
15,0	19,2
18,5	18,8
15,1	18,6
15,3	18,3
15,7	18,1

Plasma 1

Mittelwert in Sekunden	$M = 15,4$
Mittlere Abweichung in Sekunden	$\sigma = \pm 0,36$
Mittlere Abweichung in Prozent	$\sigma = \pm 2,34$
Maximale Abweichung in Sekunden:	$+ 0,6$
	$- 0,5$

Plasma 2

Mittelwert in Sekunden	$M = 18,7$
Mittlere Abweichung in Sekunden	$\sigma = \pm 0,36$
Mittlere Abweichung in Prozent	$\sigma = \pm 1,92$
Maximale Abweichung in Sekunden:	$+ 0,5$
	$- 0,8$

B. Bestimmung der Normalwerte und physiologischen Schwankungen

a) Normalwerte

Die Normalwerte für die Serumproteine, den Prothrombinindex und die abgestufte Takata-Reaktion wurden an 20 Rindern ermittelt. Es handelte sich um klinisch gesunde, nicht trächtige Schlachtrinder verschiedener Rassen im Alter von 2 bis 7 Jahren, bei denen nach der Schlachtung makroskopisch keine pathologisch anatomischen Veränderungen zu erkennen waren und deren Lebern sich auch histologisch als normal erwiesen. Die bei den 20 Tieren erzielten Einzelwerte und die daraus resultierenden mittleren Normalwerte sind in den Tabellen 6 bis 8 wiedergegeben.

b) Physiologische Schwankungen

Der Normalwert stellt einen Mittelwert dar und setzt sich aus einer Anzahl von bei gesunden Tieren ermittelten Einzelwerten zusammen, die mehr oder weniger voneinander abwichen. Diese Differenzen entsprechen der physiologischen Schwankungsbreite und müssen - ebenso wie die methodischen Fehler - bei der Auswertung von Untersuchungsergebnissen berücksichtigt werden.

Die Schwankungen der Normalwerte können durch Berechnung der mittleren oder quadratischen Abweichungen (σ) vom Mittelwert abgegrenzt werden. Als sichere Grenzen eines Normalbereiches (für 95,4 % aller Werte) werden allgemein $\pm$ 2 σ über und unter dem Mittelwert anerkannt.

Für die Serumproteinfraktionen und das Gesamteiweiß wurden in Übereinstimmung mit Angaben in der Literatur bei den vorliegenden Untersuchungen Streuungen der Normalwerte gefunden, die erkennen lassen, daß die normalen Serumeiweißwerte beim Rind erheblichen Schwankungen unterworfen sind (Tabellen 6 und 7). Die Umrechnung der relativen Prozentwerte für die einzelnen Serumeiweißfraktionen in absolute Werte (g%) anhand der Gesamteiweißwerte führte zu besonders großen Abweichungen, da sich hier die Streuungen für Gesamteiweiß und relative Eiweißwerte summieren.

Auch für den Prothrombinindex wurde eine beträchtliche normale Schwankungsbreite ermittelt. Die Ergebnisse bei der abgestuften Takata-Reaktion nach MANCKE und SOMMER lassen lediglich die Aussage zu, daß Grenzkonzentrationen von 110 bis 50 mg% Sublimat im Normalbereich liegen und nur solche unter 50 mg% als pathologisch angesehen werden können (Tabelle 8).

Tabelle 6

Papierelektrophoretisch ermittelte Serumeiweißfraktionen bei 20 gesunden Schlachtrindern (in rel. %)

Nr.	Unt.-Nr.	Rasse	Albumin	Globuline α-	Globuline β-	Globuline γ-
1	6	Dä.	49,1	12,9	8,6	29,3
2	16	Sb.	45,2	18,6	9,9	26,4
3	19	Hö.	37,5	17,1	11,3	34,2
4	29	Hö.	35,0	20,9	9,9	34,4
5	41	Dä.	51,4	12,2	8,8	27,7
6	42	Sb.	45,8	13,0	11,4	30,0
7	50	Dä.	42,9	20,3	13,7	23,2
8	53	Dä.	44,7	16,7	11,3	27,5
9	54	Dä.	41,4	16,4	11,6	30,8
10	56	Hö.	42,9	10,8	12,2	34,1
11	57	Hö.	41,6	11,5	12,7	34,3
12	59	Hö.	46,8	16,5	8,6	28,2
13	60	Hö.	51,4	17,2	8,2	23,4
14	61	Hö.	47,9	12,5	8,8	30,8
15	81	Dä.	38,9	19,1	10,1	32,0
16	84	Dä.	36,7	23,0	14,4	26,0
17	95	Sb.	42,3	19,2	9,6	29,1
18	97	Sb.	48,5	16,8	8,0	26,9
19	98	Sb.	46,6	18,9	10,7	24,1
20	99	Sb.	50,2	14,8	8,2	26,9
Mittelwert		M =	44,3	16,4	10,4	29,0
Mittl. Abweich.		σ =	± 4,9	± 3,4	± 1,9	± 3,6
Mittl. Abweichung in % des Mittelwertes		σ =	± 11,1	±20,7	±18,3	± 12,4
Maximale Abweichungen vom Mittelwert:			+ 7,1 - 9,3	+ 6,6 - 5,6	+ 4,0 - 2,4	+ 5,4 - 5,8

Tabelle 7

Serumeiweißfraktionen und Gesamteiweiß bei 20 gesunden Schlachtrindern (in g%)

Nr.	Unt.-Nr.	Gesamt-Eiweiß	Albumin	Globuline α-	Globuline ß-	Globuline γ-
1	6	6,80	3,34	0,88	0,58	1,99
2	16	7,24	3,27	1,35	0,72	1,91
3	19	7,87	2,95	1,34	0,89	2,69
4	29	6,26	2,19	1,30	0,62	2,15
5	41	8,64	4,44	1,06	0,76	2,39
6	42	8,29	3,79	1,08	0,94	2,48
7	50	7,43	3,18	1,51	1,02	1,72
8	53	7,14	3,19	1,19	0,81	1,96
9	54	7,51	3,10	1,23	0,87	2,32
10	56	6,90	2,95	0,75	0,84	2,35
11	57	7,56	3,15	0,87	0,96	2,59
12	59	6,80	3,18	1,12	0,58	1,93
13	60	7,39	3,80	1,27	0,60	1,72
14	61	8,41	4,03	1,05	0,74	2,60
15	81	7,65	2,97	1,46	0,77	2,45
16	84	6,03	2,21	1,39	0,87	1,57
17	95	8,41	3,55	1,61	0,81	2,45
18	97	7,77	3,76	1,30	0,62	2,09
19	98	6,25	2,89	1,18	0,67	1,51
20	99	8,09	4,06	1,19	0,66	2,17
Mittelwert		M = 7,42	3,30	1,21	0,77	2,15
Mittlere Abweichung		$\sigma = \pm 0{,}76$	$\pm$ 0,57	$\pm$ 0,22	$\pm$ 0,13	$\pm$ 0,36
Mittl.Abw.in % des Mittelw.		$\sigma = \pm 10{,}2$	$\pm 17{,}3$	$\pm 18{,}2$	$\pm 16{,}9$	$\pm 16{,}7$
Maximale Abw. vom Mittelwert:		+1,22 -1,39	+ 1,14 - 1,11	+ 0,25 - 0,46	+ 0,25 - 0,19	+ 0,54 - 0,64

Tabelle 8

Prothrombinindices und Takata-Reaktion (n. MANCKE-SOMMER) bei 20 gesunden Schlachtrindern

Lfde. Nr.	Unt. Nr.	Prothrombinindex %	Takata-Reaktion Grenzkonz./mg%
1	6	105,5	50
2	16	90,6	100
3	19	118,9	50
4	29	98,3	50
5	41	108,4	100
6	42	98,7	90
7	50	102,4	70
8	53	107,6	60
9	54	103,1	70
10	56	110,3	60
11	57	105,2	50
12	59	97,7	90
13	60	109,5	110
14	61	100,0	90
15	81	103,6	60
16	84	109,5	70
17	95	106,2	70
18	97	105,6	70
19	98	132,6	90
20	99	114,0	80

Prothrombinindex

Mittelwert	M =	106,4
Mittlere Abweichung	σ =	8,8
Mittlere Abweichung in % des Mittelwertes	σ =	8,3
Maximale Abweichung	= +	26,2
	-	8,7

Takata-Reaktion (n.MANCKE-SOMMER)

Grenzkonzentration bei 20 gesunden Rindern in mg % Sublimatkonzentration: 110 - 50

Zusammenfassend ergeben sich aus den Tabellen 6 - 8 folgende Normalwerte (M) und mittleren Abweichungen (σ):

Serumeiweißfraktionen in rel. %:

Albumin	α-Glob.	ß-Glob.	γ-Glob.
44,3 ± 4,9	16,4 ± 3,4	10,4 ± 1,9	29,0 ± 3,6

Serumeiweißfraktionen in g%:

Albumin	α-Glob.	ß-Glob.	γ-Glob.
3,30 ± 0,57	1,21 ± 0,22	0,77 ± 0,13	2,15 ± 0,36

Gesamteiweiß in g%:

7,42 ± 0,76

Prothrombinindex in %:

106,4 ± 8,8

abgestufte Takata-Reaktion:

normale Sublimat-Grenzkonzentrationen: 110 - 50 mg%

C. Untersuchungen an Schlachtrindern

Bei den Untersuchungen an lebergeschädigten Schlachtrindern sollte geprüft werden, ob die Serumeiweißverhältnisse und die Gerinnungsvalenz bei klinisch nicht erkennbaren und chronischen Leberschäden des Rindes verändert sind und wieweit diese Veränderungen Aussagen über das Stadium, die Art und den Umfang einer Lebererkrankung zulassen.

Für die Durchführung der Untersuchungen wurden insgesamt 76 Rinder ausgewählt, bei denen makroskopisch und histologisch Leberschäden nachgewiesen werden konnten. Es handelte sich dabei um 70 Kühe, 2 Bullen und 4 Ochsen verschiedener Rassen. Alle Tiere waren mehr als 2 Jahre alt.

Vor der Schlachtung wurden einer größeren Anzahl von Rindern Blutproben entnommen. Auf die Entnahme von Blutproben beim Ausbluten der Schlachttiere wurde verzichtet, um zu gewährleisten, daß nur rein venöses Blut zur Untersuchung gelangte. Nach der Schlachtung wurden auf Grund der makroskopischen Leberbefunde Gewebsproben für die histologische Untersuchung entnommen und zwar je eine Probe aus den am stärksten und den am wenigsten veränderten Bezirken. Auf diese Weise wurden Blut- und Gewebsproben von 70 Tieren für die Untersuchungen ausgewählt. Weiterhin wurden die Blutproben von 6 Tieren analysiert, deren Lebern makroskopisch normal erschienen, mikroskopisch jedoch Veränderungen erkennen ließen. In der Regel wurden bei jedem Tier die papierelektrophoretische Analyse der Serumproteine, die Bestimmungen von Gesamteiweiß und Prothrombinzeit sowie die Takata-Reaktion durchgeführt. Aus technischen Gründen konnten jedoch bei 10 Rindern nicht alle Bestimmungen vorgenommen werden.

Da die Proben zur Untersuchung der Gerinnungsvalenz erst in das Laboratorium der Klinik transportiert werden mußten, galt es zunächst zu prüfen, ob bei der Durchführung des Prothrombintests Fehlergebnisse auftreten, wenn dieser erst mehrere Stunden nach der Blutentnahme vorgenommen wird. Zu diesem Zweck wurden bei 8 klinisch gesunden

Rindern je 2 Citratblutproben gleichzeitig gewonnen. Die Gerinnungszeit der einen Blutprobe wurde jeweils im Anschluß an die Blutentnahme, die der zweiten nach vierstündiger Aufbewahrung bei Zimmertemperatur bestimmt. Aus den in Tabelle 9 aufgeführten Ergebnissen geht hervor, daß sich die Gerinnungszeiten auch bei längerem Stehenlassen der Citratblutproben praktisch nicht ändern.

Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu den in der Humanmedizin gemachten Erfahrungen. Die Bestimmung der Prothrombinzeit beim Menschen soll ein bis zwei Stunden nach der Blutentnahme durchgeführt werden, da es sonst durch weitgehende Zerstörung des Faktors V zur Vortäuschung verminderter Prothrombinwerte kommen kann (SCHMID, 1951). Die Konzentration des Faktors V ("labile factor") im menschlichen Plasma ist wesentlich geringer als im Plasma von Hund, Kaninchen und anderen Säugetieren. Hundeblut enthält zehnmal und Kaninchenblut sogar fünfzigmal so viel Faktor V wie menschliches. Auch für das heute als mit dem Faktor V identisch angesehene Plasma-Accelerator-Globulin werden für verschiedene Tierarten wesentlich höhere Werte angegeben als für den Menschen. So ist die relative Plasma-Accelerator-Globulin-Konzentration beim Rind etwa siebenmal so groß wie beim Menschen (SCHMID, 1951). Daraus resultiert, daß eine Prothrombinaktivator-Verminderung beim Menschen wesentlich stärker ins Gewicht fällt als beim Rind. Die Tatsache, daß auch nach längerer Aufbewahrung von Rinder-Citratblut keine Änderungen der Gerinnungszeit zu beobachten sind, spricht dafür, daß beim Rind vier Stunden nach der Blutentnahme nur ein Teil des Faktors V inaktiviert sein dürfte und infolge des hohen Überschusses die teilweise Inaktivierung desselben ohne Einfluß auf den Gerinnungsablauf bleibt.

Bei der Bestimmung der Gerinnungszeit am rekalzifizierten Blutplasma von Rindern konnte LENZ (1955) allerdings nur dann brauchbare Ergebnisse erzielen, wenn er den Test spätestens 2 1/4 Stunden nach der Blutentnahme vornahm. WEIGER (1953) erhielt beim Rind verwertbare Ergebnisse auch dann, wenn er den Gerinnungstest nicht im Anschluß an die Blutentnahme durchführte.

Tabelle 9

Veränderungen der Prothrombinzeiten nach Aufbewahrung von Citratblut bei Zimmertemperatur

a) - Prothrombinzeitbestimmung unmittelbar nach der Blutentnahme

b) - Prothrombinzeitbestimmung 4 Stunden nach der Blutentnahme

Lfde. Nr.	Vers.-Tier		Einzelbestimmungen in Sekunden			Mittelwert	Diff. in Sek.
1	"Andree"	a)	17,2	18,4	17,5	17,7	
		b)	17,1	17,6	17,6	17,4	- 0,3
2	"Haberm." I	a)	18,0	17,2	17,7	17,6	
		b)	17,9	17,5	17,7	17,7	+ 0,1
3	VT. I	a)	16,3	16,3	16,0	16,2	
		b)	16,2	16,0	15,7	16,0	- 0,2
4	VT. II	a)	18,5	18,2	17,7	18,1	
		b)	18,6	18,2	18,7	18,5	+ 0,4
5	VT.III	a)	15,3	14,9	15,5	15,2	
		b)	15,8	15,5	15,4	15,6	+ 0,4
6	VT. IV	a)	19,4	18,7	19,7	19,3	
		b)	19,5	19,7	18,9	19,4	+ 0,1
7	"Fistel"	a)	17,7	18,0	18,0	17,9	
		b)	18,1	17,8	17,7	17,9	± 0,0
8	"Haberm." II	a)	17,7	18,4	17,9	18,0	
		b)	17,3	18,1	17,8	17,7	- 0,3

Bei den vorliegenden Untersuchungen an Schlachtrindern wurde, um gleichbleibende Versuchbedingungen einzuhalten, der Prothrombintest in jedem Falle vier Stunden nach der Blutentnahme vorgenommen. Die zur Berechnung des Prothrombinindex nötige Prothrombinzeit eines Normalplasmas wurde jeweils in einem Arbeitsgang mit der der Versuchstiere bestimmt. Auch diese Normalblutprobe wurde stets vier Stunden vor Beginn des Tests genommen.

Das für die übrigen Untersuchungen erforderliche Serum wurde etwa fünf Stunden nach der Blutentnahme gewonnen. Anschließend wurde es bis zum Beginn der Analysen im Kühlschrank aufbewahrt. Während die Bestimmung des Gesamteiweißes und das Ansetzen der Takata-Reaktion noch am gleichen Tage erfolgte, wurde die papierelektrophoretische Trennung der Serumproteine in der Regel erst ca. 24 Stunden später durchgeführt. Nach Angaben in der Literatur ändern sich die Eiweißfraktionen bei im Kühlschrank aufbewahrten Seren im Laufe einer Woche nicht (BOGUTH, 1953; EVERBECK, 1957).

Wie bereits erwähnt, wurden die Lebern der ausgewählten Tiere zur Beurteilung des pathologisch-anatomischen Zustandes makroskopisch und histologisch untersucht. Anhand der Leberbefunde wurde versucht, die untersuchten Rinder in Gruppen einzuteilen. Durch diese Gruppierung sollte eine bessere Übersicht über Untersuchungsmaterial und Ergebnisse erreicht werden. Außerdem sollte geprüft werden, ob auch die Mittelwerte der Ergebnisse von mehreren Tieren mit gleichartigen Leberschäden signifikante Abwichungen von den Normalwerten erkennen lassen. In Anbetracht der Uneinheitlichkeit der Befunde hinsichtlich der Art, des Umfangs und des Stadiums der Veränderungen erwies sich diese Einteilung jedoch als problematisch und konnte nur nach mehr oder weniger groben Gesichtspunkten vorgenommen werden. Zusammengefaßt wurden dabei jeweils Tiere, deren Lebern bezüglich der für die betreffende Gruppe am wichtigsten erscheinenden pathologischen Merkmale ähnliche Befunde lieferten. In mehreren Fällen wäre infolge der Vielfalt der histologischen Teilbefunde der Lebern eine Zuordnung der Tiere zu verschiedenen Gruppen

möglich gewesen. Trotzdem wurde der besseren Übersicht wegen jedes Tier nur einmal einer Gruppe zugeordnet. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte jedoch unter Berücksichtigung von Überschneidungen der Gruppenzugehörigkeit.

Die bei den einzelnen Tieren ermittelten makroskopischen und histologischen Leberbefunde sowie die Ergebnisse der durchgeführten Laboruntersuchungen sind in den Tabellen 10 bis 17 aufgeführt. Aus Gründen der Übersichtlichkeit und der Raumersparnis mußte in diesen Tabellen eine Anzahl von Abkürzungen verwendet werden. Eine Zusammenstellung dieser Abkürzungen sowie die Erklärung der in den Tabellen vorkommenden Zeichen ist aus Seite 106 wiedergegeben.

Bei den in den nachfolgenden Tabellen angegebenen Leberschäden handelte es sich im einzelnen um:

a) Distomatose

Diese durch Fasciola hepatica verursachte Erkrankung wurde bei der Mehrzahl der untersuchten Fälle - 40 Rindern - ermittelt. Cholangitiden und pericholangioläre Fibrosen standen hier im Vordergrund der Veränderungen. Histologisch konnten außerdem interstitielle und z.T. auch intralobuläre Fibrosen, herdförmige zellige Infiltrationen in Interstitium und Parenchym, Leberzellschäden (Degenerationen bzw. Nekrosen), wabige Entmischung der Leberzellen und vereinzelt Stauungen nachgewiesen werden. In der Regel war der rechte Leberlappen wesentlich geringer befallen als der linke Teil des Organs. Dementsprechend wurde die für die histologische Untersuchung entnommene Leberprobe I (makroskopisch am stärksten verändertes Lebergewebe) jeweils aus dem linken Lappen, die Probe II (makroskopisch am wenigsten bzw. nicht verändertes Gewebe) aus dem rechten Lappen entnommen. Die histologische Untersuchung der Probe II ergab jeweils, ob noch ein Teil des Lebergewebes als gesund anzusehen war. In Verbindung mit dem makroskopischen Befund konnte daraus ungefähr beurteilt werden, wie groß der Anteil des erkrankten Gewebes

an der gesamten Leber war. Genaue Aussagen über die Relationen zwischen erkranktem und gesundem Gewebe wären allerdings nur anhand der histologischen Befunde einer jeder Leber zu entnehmenden größeren Anzahl von Gewebsproben möglich gewesen.

Bei der Unterteilung der Distomatose-Fälle wurde zunächst auf Grund der makroskopischen Leberbefunde zwischen gering-, mittel- und hochgradigen Veränderungen unterschieden. Für die weitere Differenzierung waren die Ergebnisse der histologischen Untersuchungen maßgebend.

Hochgradige Distomatose:

In den Tabellen 10 a - c sind die Schlachtrinder - 12 - zusammengefaßt, die an hochgradiger Distomatose litten. In allen Fällen lag hier eine hochgradige Cholangitis vor. Außerdem war das pericholangioläre und interstitielle (perilobuläre) Bindegewebe erheblich vermehrt. Neben diesen bei allen Fällen von hochgradiger Distomatose ermittelten Befunden konnten bei einem Teil der Tiere dieser Gruppe zusätzlich Leberzellschäden (Tabelle 10a) sowie herdförmige Zellinfiltrate im Leberparenchym und Interstitium (Tabelle 10b) nachgewiesen werden. Der linke Leberlappen war in allen Fällen von hochgradiger Distomatose stärker verändert als der rechte. Letzterer erwies sich in zwei dieser Fälle sogar als völlig unverändert. Bei zwei anderen Lebern dieser Gruppe war ein Teil des rechten Lappens normal, während bei den übrigen das gesamte Gewebe Veränderungen erkennen ließ.

Mittelgradige Distomatose:

In den Tabellen 11a und b sind 7 Fälle von mittelgradiger Distomatose aufgeführt. Während bei dieser Gruppe die Veränderungen an den Gallengängen und die Vermehrung des Bindegewebes insgesamt etwas geringgradiger waren als bei der Gruppe mit hochgradigem Lebergelbefall, fiel hier auf, daß bei 5 von insgesamt 7 Fällen Leberparenchymschäden und z.T. stärkere Verfettungen der Leberzellen

nachgewiesen werden konnten (Tabelle 11a). In zwei weiteren Fällen von mittelgradiger Distomatose bestanden im linken Leberlappen neben Cholangitis und interstitieller Fibrose stauungsbedingte Veränderungen (Tabelle 11b).

Geringgradige Distomatose:

Geringgradige Distomatose wurde bei 21 Rindern ermittelt. Die an den Lebern dieser Tiere festgestellten Veränderungen sowie die Ergebnisse der durchgeführten Laboruntersuchungen sind in den Tabellen 12a - e zusammengestellt. Obwohl sich der Leberegelbefall hier bei allen Tieren auf den linken Leberlappen beschränkte, war der histologische Leberbefund der Leberprobe II, die jeweils dem rechten Leberlappen entnommen wurde, nur in 5 Fällen völlig normal. Bei den übrigen Lebern dieser Gruppe unterschieden sich die mikroskopischen Befunde der Proben I und II lediglich graduell. Es handelte sich dabei in allen Fällen um Cholangitiden und um geringgradige pericholangioläre und interstitielle Fibrosen. Außerdem konnten mikroskopisch, wie bei den stärker distomatös veränderten Lebern,auch hier Leberparenchymschäden (Tabelle 12a), hepatitische Herdchen und zellige Infiltrate im Interstitium (Tabelle 12b), teilweise wabige Entmischungen der Leberzellen (Tabelle 12c), intralobuläre Fibrosen bzw. Cirrhosen (Tabelle 12 d), Verfettungen der Leberläppchen und Stauungen nachgewiesen werden.

Zusammenfassend ist zu den bei Distomatose-Lebern ermittelten pathologisch-anatomischen Befunden zu sagen, daß zwischen den Veränderungen bei gering-, mittel- und hochgradiger Distomatose, abgesehen von der Intensität, keine prinzipiellen Unterschiede zu erkennen waren. Bei allen drei Gruppen waren in einem Teil der Fälle neben chronischen Cholangitiden und Proliferationen des interstitiellen Gewebes auch akute entzündliche und degenerative Veränderungen des Leberparenchyms zu erkennen, die als Folge der von den Leberegeln verursachten toxischen Reizwirkung anzusehen sind. Die bei frischen Leberegelinvasionen im Lebergewebe zu erkennenden Bohrgänge wurden in keinem Fall festgestellt, es handelte sich ausschließlich um chronische Distomatosen.

b) Verschiedene Leberschäden

Außer an Rindern mit chronisch distomatös veränderten Lebern wurden noch an 36 weiteren Rindern, bei denen sich nach der Schlachtung Leberveränderungen erkennen ließen, Untersuchungen vorgenommen. Die bei diesen Tieren ermittelten Leberbefunde und Ergebnisse der Laboruntersuchungen sind in den Tabellen 13 bis 17 in der nachstehend aufgeführten Einteilung wiedergegeben. Diese erfolgte hier ausschließlich anhand der histologischen Untersuchungsergebnisse, da die makroskopischen Befunde häufig keine exakte pathologisch-anatomische Diagnose und auch keine Gruppierung gestatteten.

Leberparenchymschäden:

Bei 9 Rindern wurden mikroskopisch Leberzellschäden nachgewiesen. Es handelte sich dabei um mehr oder weniger zahlreiche kleinherdige, makroskopisch nicht erkennbare Leberzellnekrosen bzw. -degenerationen. In den Leberläppchen zeigten sich z.T. gleichzeitig Strukturveränderungen, herdförmige Zellinfiltrate und periphere Verfettungen. In einigen Fällen war das perilobuläre Bindegewebe vermehrt. Makroskopisch waren bei diesen Lebern teils Umfangsvermehrungen, teils partielle Atrophien zu erkennen, 3 der Lebern dieser Gruppe erschienen makroskopisch normal (Tabelle 13).

Zellige Infiltrate im Leberparenchym und Interstitium:

10 Rinder, deren Lebern herdförmige Zellinfiltrate im Leberparenchym und im Interstitium aufwiesen, sind in Tabelle 14 aufgeführt. Neben den zelligen Infiltraten waren bei diesen Lebern mikroskopisch interstitielle und z.T. auch intralobuläre Fibrosen zu erkennen. Makroskopisch wurden in 7 der Fälle diffuse oder umschriebene Verhärtungen des Lebergewebes ermittelt. Es handelte sich hier also nicht um Lebern, die grobsinnlich das Bild einer Hepatitis erkennen ließen. In einem Fall war die Konsistenz mürbe-brüchig. Histologisch konnte bei dieser

Leber eine diffuse Verfettung des Parenchyms nachgewiesen werden. Sowohl diese als auch 4 mehr oder weniger verhärtete Lebern zeigten eine hell- bis ockerbraune Färbung. Bei zwei Lebern dieser Gruppe waren makroskopisch keine Veränderungen zu erkennen.

Interstitielle Fibrosen:

Ausschließlich chronische Veränderungen wurden an den Lebern von 6 weiteren Rindern nachgewiesen. Makroskopisch waren hier Abweichungen der Konsistenz und der Farbe des Lebergewebes festzustellen. Die mikroskopischen Untersuchungen dieser Lebern ergaben interstitielle Fibrosen und z.T. gleichzeitig auch vermehrte Fetteinlagerungen in den Leberläppchen. Neben diesen histologischen Befunden wurden in einem Fall dieser Gruppe (Nr. 80) stauungsbedingte Alterationen (Erweiterung der Zentralvenen und Proliferation des diese umgebenden Bindegewebes) ermittelt (Tabelle 15).

Leberverfettungen:

Bei den Lebern der in Tabelle 16 aufgeführten 8 Rinder ergab die histologische Untersuchung Leberverfettungen verschiedenen Grades. Es handelte sich dabei jedoch nicht um fettige Degeneration sondern um reversible Verfettungen. In 4 Fällen dieser Gruppe konnten außerdem Stauungen nachgewiesen werden.

Leberabszesse, Tuberkulose:

In zwei Fällen wurden abgekapselte Leberabszesse gefunden. Gleichzeitig lag hier Reticuloperitonitis traumatica vor. Es bestand jedoch bei beiden Tieren keine direkte Verbindung zwischen der umschriebenen Entzündung am Haubengrund und dem Leberabszeß, so daß die Einwanderung der Eitererreger auf dem Blutwege erfolgt sein muß. Bei Rind Nr. 27 war gleichzeitig eine geringgradige Leberstauung zu erkennen; sowohl im Interstitium als auch in den Leberläppchen wurden hier außerdem vereinzelt Zellinfiltrate ermittelt.

Tuberkulose wurde in einem Fall festgestellt. Bei diesem Tier waren Lungen-, Leber- und Darmlymphknoten tuberkulös verändert. Außerdem ließen sich im Lungen- und Lebergewebe miliare tuberkulöse Herdchen erkennen. Weitere Veränderungen im Lebergewebe konnten bei diesem Tier nicht nachgewiesen werden (Tabelle 17).

Die in den Tabellen 13 bis 17 aufgeführten Leberbefunde lassen erkennen, daß es sich hier in allen Fällen um verhältnismäßig geringgradige Veränderungen handelte. Auf Grund der histologischen Untersuchungsergebnisse kann angenommen werden, daß bei sämtlichen Tieren noch ein größerer Anteil des Lebergewebes voll funktionsfähig war. Leberzellnekrosen bzw. -degenerationen und entzündliche Veränderungen betrafen jeweils nur einen sehr geringen Prozentsatz des Parenchyms. In einigen Fällen von Leberverfettung war zwar die Mehrzahl der Parenchymzellen verfettet, doch ist auch hier nicht unbedingt eine wesentliche Funktionsminderung zu erwarten, da es sich lediglich um einfache reversible Verfettungen handelte. Die Reversibilität gilt auch für die bei 5 Lebern gefundenen intralobulären Fibrosen, diese konnten jeweils nur in einzelnen Leberläppchen nachgewiesen werden. Interstitielle Fibrosen wurden bei 20 der in den Tabellen 13 bis 17 aufgeführten Fälle ermittelt. Eine derart hochgradige Vermehrung des interstitiellen Bindegewebes, wie sie bei mehreren distomatös veränderten Lebern bestand, zeigte sich hier jedoch in keinem Fall. Soweit das Interstitium in Gewebsproben aus druckatrophischen Bezirken vermehrt erschien, handelte es sich zudem nicht ausschließlich um echte Fibrosen sondern z.T. auch um eine relative Erhöhung des Bindegewebsanteils, die durch den teilweisen Schwund des Parenchyms bedingt war.

Verzeichnis der in den Tabellen 10 bis 17 verwendeten Abkürzungen

Rinderrassen (Ra.)

Sb. - Schwarzbuntes Niederungsrind
Rb. - Rotbuntes Niederungsrind
Dä. - Dänisches Rotvieh
Hö. - Höhenfleckvieh

makroskopische Leberbefunde

li. - Veränderungen am linken Leberlappen
re. - Veränderungen am rechten Teil der Leber
Kons. - Konsistenz
Läppchenz. - Läppchenzeichnung
GG. - Gallengänge
GGW. - Gallengangswände
Dist. - Distomatose

mikroskopische Leberbefunde

LL. - Leberläppchen
LZ. - Leberzellen
Fibr. - Fibrose
Deg. - Degeneration
Inf. - Infiltrate
Ery. - Erythrozyten
Chol.dist. - Cholangitis distomatosa
entz. - entzündlich
perichol. - pericholangiolär
herdf. - herdförmig

Der Grad der Veränderungen wird durch + ; ++ ; +++ angegeben.

Untersuchungsergebnisse

Durch + bzw. - wird angegeben, daß die ermittelten Werte mehr als 1 bzw. mehr als 2 (++;--) von den normalen Mittelwerten abweichen.

Die Serumeiweißfraktionen sind jeweils untereinander in der Reihenfolge Albumin, α-, ß- und γ-Globulin aufgeführt.

Als Ergebnis der abgestuften Takata-Reaktion nach Mancke-Sommer (Tak.-R.) wird die Grenzkonzentration (Gk.) in mg% Sublimat angegeben.

Tabelle 10

Schlachtrinder mit hochgradigem Leberegelbefall

Anmerkung: Zusätzliche Befunde

Nr. 7 - Lungenwurmbefall; Nr. 26 - Lungenlymphknoten tuberkulös;

Nr. 12 - Mastitis; Nr. 1 - Darmlymphknoten tuberkulös;

Nr.	Ra.	Makroskopischer Leberbefund	Histologischer Leberbefund I	Hist.Leberbefund II	Ges.Eiw. g%	Eiweißfraktionen rel.%	Eiweißfraktionen g%	Pr.-Ind. %	Tak.-R. Gk./mg%
a) Distomatose +++ mit Leberparenchymschädigung									
7	Sb.	Dist.li.und re.+++ ; GGW.verdickt;G.G.mit Eiter gefüllt;kons. derb;Läppchen deutl.;	Chol.dist.+++;perichol.und interstitielle Fibrose +++ ; intralobuläre Fibrose + ; einzelne LZ.-Degenerationen;	o.b.B.	9,01 ++	42,6 19,5 10,0 28,1	3,84 1,76 ++ 0,90 2,52 +	100,6	60
22	Sb.	Dist.li.und re.+++ ; GGW.verdickt und inkrustiert;Konsistenz derb; Läppchenz.deutlich;	Chol.dist.+++;perichol.Fibrose +++;interstitielle Fibr.++ ; einzelne kleinste entz.Herdchen mit LZ.-Nekrosen;Stauung;Angiekt.	gleichsinnig	9,18 ++	22,9 -- 28,6 ++ 12,3 36,3 ++	2,10 -- 2,62 ++ 1,13 ++ 3,33 ++	89,3 -	40
26	Hö.	Dist.li.und re.+++; GGW.verdickt und inkrust.;li.atrophisch, re.hypertrophisch;	Chol.dist.+++;perichol.Fibrose +++;interstitielle Fibr.+; kleinste hepatitische Herdchen mit Leberzellnekrosen;	vereinzelt interstitielle Zellinfiltrate	7,07	32,4 -- 20,9 + 11,7 35,0 +	2,28 - 1,48 + 0,83 2,47	97,0 -	50
b) Distomatose +++ mit zelligen Infiltraten in Parenchym und Interstitium									
3	Rb.	Dist.li.und re.+++; GGW.verdickt und inkrustiert;Kons.li. derb;abgekaps.Paras.;	Chol.dist.+++;perichol.und interstitielle Fibr.+++;zahlr. Zellinfiltrate im Interstitium kleinherd.Cirrh.;LL.verm.fetth.;	gleichsinnig, jedoch geringgradiger;	7,68	48,8 13,2 9,0 28,9	3,74 1,02 0,69 2,22	91,5 -	30
63	Hö.	Dist.li.und re. +++; GGW. verdickt und inkrustiert;GG.mit Eiter gefüllt;Kons.derb;	Chol.dist.+++;perichol.Fibrose +++;interst.Fibr.++;vereinzelt entz.Herdchen mit wabiger Entmischung der Leberzellen;	interstitielle Fibrose +;kleinste Zellinfiltrate im Interst.;	9,93 ++	25,4 -- 15,7 15,5 ++ 43,5 ++	2,52 - 1,56 + 1,54 ++ 4,31 ++	102,7	70
48	Hö.	Dist.li.und re.+++; GGW.stark verdickt; GG.mit abgestorbenen Leberegeln gefüllt;	Chol.dist.+++;perichol.Fibrose +++;interstitielle Fibr.++; kleinstherdige Zellinfiltrate im Interstitium;	o.b.B.	8,16	37,0 - 14,6 9,5 39,1 ++	3,01 1,19 0,77 3,19 ++	105,9	60
64	Hö.	Dist.li.+++; GGW.li.verdickt und inkrustiert;	Chol.dist.+++;perichol.Fibrose +++;interstitielle Fibrose ++;herdförmige interstitielle Zellinfiltrate +(+);	o.b.B.	7,87	38,9 - 18,1 13,9 + 29,1	3,06 1,42 1,09 ++ 2,29	99,3	100
c) Distomatose +++ ohne Leberzellschädigung oder zellige Infiltrate									
12	Sb.	Dist.li.und re.+++; GGW.stark verdickt, li.auch inkrustiert; GG.mit Detritus gefüllt;	Chol.dist.+++;perichol.,interstitielle und intralobuläre Fibrose +(+); LL.peripher vermehrt fetthaltig;	gleichsinnig, jedoch geringgradiger;	6,57 -	41,7 20,9 + 10,0 27,5	2,74 1,37 0,66 1,80	96,1 -	70
1	Sb.	Dist.li.+++; GGW.li.verdickt;	Chol.dist.+++;kleinherdige perichol.Fibrose +;interstitielle Fibrose +; vereinzelt intralobuläre Fibrose +-;	o.b.B.	7,73	33,7 -- 20,4 + 11,8 34,2 ++	2,61 - 1,57 + 0,91 + 2,64 +	92,1 -	90
45	Hö.	Dist.li.und re.+++; GGW.stark verdickt und inkrust.;Kons.derb; Läppchenz.mäßig deutl;	Chol.dist.++;perichol.Fibrose +++;interstitielle Fibrose +; leichte Stauung;	gleichsinnig, jedoch geringgradiger;	7.05	42,4 16,6 10,7 30,4	2,98 1,17 0,75 2,14	106,7	110

Nr.	Ra.	Makroskopischer Leberbefund	Histologischer Leberbefund I	Hist.Leberbefund II	Ges.Eiw. g%	Eiweißfraktionen rel.%	Eiweißfraktionen g%	Pr.-Ind. %	Tak.-R. Gk./mg%
Forts.Tab. c									
28	Sb.	Dist.li.und re.+++; GGW.stark verdickt, GG. mit Detritus gefüllt;	Chol.dist.+++;pericholangioläre Fibrose +++;interstitielle Fibrose ++;	gleichsinnig	5,95 -	33,9 -- 18,0 13,6 + 34,6 +	2,01 -- 1,07 0,81 2,06	97,6	80
71	Hö.	Dist.li.und re.+++; GGW.stark verdickt und inkrust.;Verwachsung li.visceral;	Cholangitis dist.+++;perichol. Fibrose +++;interstitielle Fibrose + (+);	Leberläppchen peripher vermehrt fetthaltig;	7,82	-	-	104,0	80

Tabelle 11

Schlachtrinder mit mittelgradigem Leberegelbefall

Anmerkung:
Zusätzlicher Befund bei Nr. 76 - eitrige Metritis

a) Mittelgradige Distomatose mit Leberparenchymschädigung

Nr.	Ra.	Makroskopischer Leberbefund	Histologischer Leberbefund I	Hist.Leberbefund II	Ges.Eiw. g%	Eiweißfraktionen rel.%	Eiweißfraktionen g%	Pr.-Ind. %	Tak.-R. Gk./mg%
68	Hö.	Dist.li.und re.++; GGW.verdickt und inkrustiert;abgek.Paras.; Verwachsung li.visc.;	Chol.dist.++;perichol.und interstit.Fibr.++;Zellinf.im Interst.; extravasale Ery.in den LL.;herdförmige vak.und wab.Deg.der LZ.; diffuse starke Verfett.mehr.LL.;	interstitielle Fibrose +;einzelne herdförmige Zellinfiltr.im Interst.;	8,16	41,8 15,4 7,6 - 35,3 +	3,40 1,26 0,62 - 2,88 ++	101,9	60
73	Hö.	Dist.li.und re.++; GGW.verdickt;Läppchenz.z.T.deutlich;li. ventral atroph.Bezirk;	Chol.dist.++;perichol.Fibr.++; interstit.Fibr.+++;LZ.herdf.vakuolär und wabig deg.;einzelne entz.Herdchen in LL. und perivask	interstitielle Fibrose +; LZ. herdförmig wabig entmischt;	7,30	41,8 15,4 8,1 - 34,7 +	3,05 1,12 0,59 - 2,54 +	97,5 -	70
9	Sb.	Dist.li.und re.++; GGW.verdickt;Konsistenz derb;deutliche Läppchenzeichnung;	Chol.dist.++;perichol.,interstitielle und intralob.Fibrose ++; LZ.z.T.vakuolär degeneriert und vermehrt fetthaltig;	Leberläppchen peripher vermehrt fetthaltig;	10,80 ++	9,6 -- 19,7 9,5 60,8 ++	1,04 -- 2,14 ++ 1,03 + 6,60 ++	112,3	20 +
76	Hö.	Dist.li.und re.+; GGW.verdickt;	Chol.dist.+;interstitielle Fibr.+++;perichol.Fibrose +; herdförmige LZ.-Degeneration; LL.periph.stärker fetthaltig; Stauung	herdförmige LZ.-Degeneration, LL. peripher stärker verfettet;	8,23 +	28,5 -- 15,9 10,6 45,2 ++	2,34 - 1,31 0,87 3,72 ++	81,6 --	50
67	Hö.	Dist.li.und re.+; GGW.verdickt;Läppchenzeichnung deutlich;li. lateral atrophisch;	Chol.dist.+;perichol.Fibr.+;interstitielle F.++;herdf.vakuol. Degen.und Nekrose der LZ.;diff. interst.Zellinf.;LL.periph.st. verf.	interstitielle Fibrose +;	7,99	40,2 18,6 8,2 - 33,0 +	3,21 1,48 + 0,66 2,63 +	108,5	60
b) Mittelgradige Distomatose mit Leberstauung									
77	Hö.	Dist.li.und re.++; GGW.stark verdickt und inkrustiert;	Chol.dist.++;perichol.und interstit.Fibr.+(+);kleine herdf.Infiltrate im Interstitium;starke Ansammlung von Ery.zw.LL.kleinherdig wabig Entm.der LZ.Stauung;	o.b.B.	7,92	39,3 - 16,9 11,5 32,3	3,11 1,34 0,91 + 2,56	96,6 -	50
88	Hö.	Dist.li.und re.++; GGW.verdickt und inkrust.;Läppchenz.deutlich (li.);atropisch,(li), re.hypertrophisch;	Chol.dist.perichol.Fibrose ++; interstitielle Fibrose +;Zentralvenen erweitert;	interstitielle Fibrose +;	8,33 +	34,7 - 21,3 + 11,3 32,7 +	2,90 1,77 ++ 0,94 + 2,72 +	104,3	80

Tabelle 12

Schlachtrinder mit geringgradigem Leberegelbefall

a) Distomatose + mit Leberparenchymschädigung

Nr.	Ra.	Makroskopischer Leberbefund	Histologischer Leberbefund I	Hist.Leberbefund II	Ges.Eiw. g%	Eiweißfraktionen rel.%	Eiweißfraktionen g%	Pr.-Ind. %	Tak.-R. Gk./mg%
5	Rb.	Dist.li.+; GGW.li.verdickt;	Chol.dist.+;perichol.,interstitielle und herdf.intralob.Fibr.+; diffuse Zellinfiltrate;in wenigen LL.LZ.-Deg.;LL.verm.fetthaltig;	gleichsinnig;	8,05	48,3 16,6 9,4 25,9	3,89 + 1,32 0,76 2,08	105,5	40 +
21	Sb.	Dist.li.+;GGW.li. verdickt;Leber leicht geschwollen;Blutgefäße gefüllt;	Chol.dist.+;perichol.und interstitielle Fibr.++;vereinzelt hepatit.Herdchen in LL.mit LZ.-Nekrosen;Stauung;	Stauung	8,70 +	34,6 - 19,7 11,0 34,8 +	3,01 1,71 ++ 0,96 + 3,03 ++	92,3 -	60
15	Sb.	Dist.li.+; GGW.li.verdickt;	Chol.dist.+;perichol.Fibrose+; interstitielle Fibrose ++; kleinherdige LZ.-Nekrosen;	gleichsinnig,jedoch geringgradiger (keine Nekrosen)	7,82	36,3 - 22,5 + 9,3 31,9	2,84 1,76 ++ 0,73 2,49	95,1 -	50

b) Distomatose + mit zelligen Infiltraten in Parenchym und Interstitium

18	Hö.	Dist.li.+; GGW.li.mäßig verdickt;	Chol.dist.++;perichol.,interstitielle und intralobuläre Fibrose ++;vereinzelt entzündliche Herdchen in LL.;	gleichsinnig,jedoch geringgradiger;	8,48 +	37,9 19,5 11,0 31,7	3,20 1,65 + 0,93 + 2,69 +	104,4	60
78	Hö.	Dist.li.+;GGW.li.verdickt;li.Lappen ventral atrophisch(handtellergroßer Bezirk);	Chol.dist.+;perichol.und interstitielle Fibrose ++;vereinzelt entz.Herdchen in LL.;herdförmige wabige Entmischung der LZ.;	gleichsinnig,jedoch geringgradiger;	8,30	39,1 - 14,4 10,5 36,1 +	3,25 1,19 0,87 3,00 ++	93,5 -	70
25	Hö.	Dist.li.GGW.li.leicht verdickt;	Chol.dist.+;perichol.Fibrose +; vereinzelt kleinste Zellinfiltrate in Interstitium und LL.; LL.peripher vermehrt fetthaltig;		7,65	27,1 -- 19,6 9,9 43,5 ++	2,07 -- 1,50 + 0,76 3,32 ++	102,5	50
4	Rb.	Dist.li.+; GGW.li.verdickt;	Chol.dist.++;perichol.Fibrose ++; interstitielle und kleinherdige intralob.Fibrose +;im Interstitium einzelne Zellinfiltrate;	gleichsinnig,jedoch geringgradiger;	7 63	40,1 16,2 10,8 32,9 +	3,06 1,24 0,82 2,51	105,5	40 +
66	Hö.	Dist.li.+; GGW.li.verdickt;	Chol.dist.++;perichol.und interstitielle Fibrose +;im Parenchym vereinzelt hepatitische Herdchen;	o.b.B.	9,18 ++	41,2 15,8 6,7 - 36,4 ++	3,78 1,45 + 0,62 - 3,33 ++	83,5 --	70
100	Sb.	Dist.li.+; GGW.li.verdickt;	Chol.dist.+;perichol.Fibrose +; in LL.vereinzelt kleinste Zellinfiltrate;	o.b.B.	7,99	48,9 16,6 8,3 - 26,1	3,91 + 1,33 0,66 2,08	114,0	80
55	Hö.	Dist.li.+; GGW.li.verdickt;	Chol.dist.+;perichol.und interstitielle Fibrose +;vereinzelt Zellinfiltrate im Interstitium;	o.b.B.	8,50 +	38,9 - 15,0 12,6 + 33,6 +	3,30 1,28 1,07 ++ 2,85 +	106,6	50

c) Distomatose + mit wabiger Entmischung der Leberzellen

Nr.	Ra.	Makroskopischer Leberbefund	Histologischer Leberbefund I	Hist.Leberbefund II	Ges.Eiw. g%	Eiweißfraktionen rel.%	Eiweißfraktionen g%	Pr.-Ind. %	Tak.-R. Gk./mg%
69	Hö.	Dist.li.++; GGW.li.stark verdickt;	Chol.dist.++;perichol.und interstitielle Fibrose ++; LZ.vereinzelt wabig entmischt; leichte Stauung;	interstitielle Fibrose + ; leichte Stauung;	6,97	41,6 19,3 14,2 + 24,9 -	2,90 1,34 0,99 + 1,74 -	107,3	70
58	Hö.	Dist.li.+ ; GGW.li.verdickt;	Chol.dist.+;perichol.und interstitielle Fibrose +; kleinherdige wabige Entmischung der Leberzellen;	leichte Stauung;	6,87	43,0 15,9 11,7 29,5	2,95 1,09 0,80 2,02	102,5	90
30	Hö.	Dist.li.+; GGW.li.leicht verdickt;	Chol.dist.+;perichol.und interstitielle Fibrose +; LZ.z.T.wabig entmischt; LL.z.T.vermehrt fetthaltig;	Leberläppchen z.T. vermehrt fetthaltig;	6,16 -	42,4 19,6 14,1 + 23,9 -	2,61 - 1,21 0,86 1,47 -	95,8 -	80

d) Distomatose + mit intralobulären Fibrosen

Nr.	Ra.	Makroskopischer Leberbefund	Histologischer Leberbefund I	Hist.Leberbefund II	Ges.Eiw. g%	Eiweißfraktionen rel.%	Eiweißfraktionen g%	Pr.-Ind. %	Tak.-R. Gk./mg%
2	Sb.	Dist.li.+; GGW.li.verdickt und inkrustiert;	Chol.dist.+;kleinherdige perichol.Fibrose +;vereinzelt intralobuläre Fibrose -+; LL.vermehrt fetthaltig;	gleichsinnig, jedoch geringgradiger;	7,82	24,1 -- 21,2 + 13,2 + 41,6 ++	1,89 -- 1,65 + 1,03 + 3,25 ++	103,1	50
46	Hö.	Dist.li.+; GGW.li.verdickt;	Chol.dist.+;perichol.,interstitielle und intralobuläre Fibrose +; leichte Stauung;		7,90	42,5 13,1 8,5 36,0 +	3,35 1,04 0,67 2,85 +	103,2	80
14	Sb.	Dist.li.+; GGW.li.verdickt; Konsistenz derb; Läppchenz.deutlich;	Chol.dist.+;perichol.,interstitielle und intralobuläre Fibrose +;	gleichsinnig, jedoch geringgradiger;	7,48	30,9 -- 28,2 ++ 10,9 30,0	2,31 - 2,11 ++ 0,82 2,24	105,4	60

e) Distomatose + ohne Veränderungen in den Leberläppchen

Nr.	Ra.	Makroskopischer Leberbefund	Histologischer Leberbefund I	Hist.Leberbefund II	Ges.Eiw. g%	Eiweißfraktionen rel.%	Eiweißfraktionen g%	Pr.-Ind. %	Tak.-R. Gk./mg%
43	Hö.	Dist.li.+; GGW.li.verdickt; kirschgroßer Abszeß im linken Leberlappen;	Chol.dist.+;perichol.Fibrose +; interstitielle Fibrose +;	Abszeßkapsel;	7,22	47,5 13,4 6,8 - 32,3	3,43 0,97 - 0,49 -- 2,33	98,1	60
87	Hö.	Dist.li.++;GGW.li. verdickt;	Cholangitis distomatosa ++ pericholangioläre und interstitielle Fibrose +;	o.b.B.	6,54 -	45,2 17,4 11,6 25,9	2,95 1,14 0,76 1,69 -	106,5	90
70	Hö.	Dist.li.+; GGW.li.verdickt;	Cholangitis distomatosa +; pericholangioläre und interstitielle Fibrose +;	gleichsinnig;	7,82	-	-	103,1	50
47	Hö.	Dist.li. +; GGW.li.leicht verdickt;	Cholangitis distomatosa +;	o.b.B.	7,65	44,9 15,3 6,6 - 33,2 +	3,43 1,17 0,51 - 2,54 +	105,9	60
96	Sb.	Distomatose li.+; GGW.li.verdickt;	-(histologisch nicht untersucht)		9,14 ++	46,1 15,5 7,5 - 30,9	4,21 + 1,42 0,69 2,82 +	104,9	70

Tabelle 13

Leberzellschäden

Nr.	Ra.	Makroskop.Leberbefund	Histologischer Leberbefund I	Hist.Leberbefund II	Ges.Eiw. g%	Eiweißfraktionen rel.%	Eiweißfraktionen g%	Pr.-Ind. %	Tak.-R. Gk./mg%
17	Hö.	sehr deutliche Läppchenzeichnung;li.ventral handtellergroßer atrophischer Bezirk;	herdförmige interstitielle Fibrose +++; herdförmige LZ.-Nekrosen, Struktur der LL.herdf.zerstört;	herdf.interstit. Fibr.+(+);vereinzelt intral.F.; vak.LZ.-Degen.;	8,69 +	34,0 -- 24,5 ++ 9,5 32,2	2,95 2,12 ++ 0,82 2,79 +	111,2	60
20	Sb.	makroskopisch o.b.B.	interst.Fibr.+;vereinz.Zellinfiltrate in Interstitium und LL; LZ.-Nekrosen und wabige Entm.der LZ.;LL.peripher verm.fetthaltig;	gleichsinnig;	8,55 +	42,4 19,4 13,2 + 25,1 -	3,61 1,66 ++ 1,13 ++ 2,15	96,0 -	60
10	Sb.	Schwellung des linken Leberlappens, besonders im distalen Bereich;	herdförmige interstitielle und intralobuläre Fibr.+; herdf.vakuoläre LZ.-Degeneration; LL.peripher vermehrt fetthaltig;	gleichsinnig, keine LZ.-Degen.;	7,65	39,8 21,2 + 14,4 ++ 24,7 -	3,05 1,62 + 1,10 ++ 1,88	97,8	60
83	Dä.	Schwellung des linken Leberlappens, Leber stark bluthaltig;	kleine herdförmige Zellinfiltrate in den LL.mit LZ.-Nekrosen; LL.peripher stärker verfettet;	-	8,16	35,7 - 18,1 12,0 34,3 +	2,90 1,48 + 0,98 + 2,80 +	106,3	60
85	Hö.	makroskopisch o.b.B.	interstit.Fibr.+;herdförmige Zellinfiltrate im Interstitium; kleinherdige.entz.Infiltrate in LL.;Degeneration der LZ;Stauung;	o.b.B.	7,56	38,0 - 18,1 12,9 + 31,2	2,87 1,36 0,97 + 2,36	105,3	70
8	Sb.	Leber geschwollen; Konsistenz leicht teigig;li.Leberlappen in Handtellergr.atrophisch;	interstitielle Fibrose ++; LZ.z.T.vakuolär degeneriert; zahlreiche Angiektasien;	o.b.B.	7,39	36,7 - 19,6 11,3 32,5	2,71 - 1,44 + 0,83 2,40	98,3	40 +
86	Hö.	Angiektasien	interstitielle Fibrose ++; pericholangioläre Zellinfiltrate; vereinzelt fettige Leberzelldegeneration;	Angiektasien	7,39	40,6 21,6 + 9,7 28,2	3,00 1,59 + 0,72 2,08	109,9	70
36	Dä.	deutliche Läppchenzeichnung;hellbraune Farbe;	LL.-Grenzen undeutlich;LZ.-Balken gequollen;Stauung:LZ.z.T. um Zentralvenen vakuolär degen.; LL.peripher stärker verfettet;	gleichsinnig;	6,80	-	-	95,5 -	80
39	Dä.	makroskopisch o.b.B.	LL.-Grenzen undeutlich;herdförmige wabige Entmischung der Leberzellen;	gleichsinnig;	9,02 ++	54,9 ++ 11,1 - 7,0 - 27,1	4,95 ++ 1,00 0,63 - 2,45	107,2	100

Anmerkung:
Bei Nr. 8 bestand Gravidität (ca. 4. Monat).

Tabelle 14

entzündliche Infiltrate im Parenchym, Zellinfiltrate im Interstitium der Leber von Schlachtrindern

Nr.	Ra.	Makroskopischer Leberbefund	Histologischer Leberbefund I	Hist.Leberbefund II	Ges.Eiw. g%	Eiweißfraktionen rel.%	Eiweißfraktionen g%	Pr.-Ind. %	Tak.-R. Gk./mg%
40	Dä.	hellbraune Farbe; Konsistenz derb;	interstitielle Fibrose +; vereinzelt herdförmige Zell-Infiltrate im Interstitium und kleinste entz.Herdchen in LL. LL.peripher vermehrt fetthaltig;	gleichsinnig	9,30 ++	44,0 14,8 11,6 29,7	4,09 + 1,37 1,08 ++ 2,76 +	94,5 -	90
62	Hö.	Läppchenzeichnung mäßig deutlich; Randbezirke li.atrophisch;	interstitielle Fibrose +(+); herdf.Zellinf.im Interstitium; vereinzelt entz.Inf.in LL.;LZ.in den infiltrierten Bez.wabig entm;	interst.Fibr.+;	9,09 ++	38,8 - 16,5 6,8 - 37,9 ++	3,52 1,50 + 0,62 - 3,44 ++	103,4	70
75	Hö.	Läppchenzeichnung mäßig deutlich; links ventral handtellergroßer atroph.Bezirk;	interstitielle F.++;intralobuläre Fibrose +; vereinzelt herdförmige Zellinf. mit herdf.wabiger Entm.der LZ.;	o.b.B.	8,70 +	35,4 - 14,5 11,0 39,1 ++	3,08 1,26 0,96 + 3,40 ++	98,9	60
13	Rb.	makroskopisch o.b.B.	einzelne herdförmige Zellinfiltr. im Interstitium;vereinzelt kleinste entzündliche Herdchen im Parenchym;	gleichsinnig	5,27 --	30,9 -- 26,4 ++ 12,9 + 29,7	1,62 -- 1,39 0,68 1,56 -	100,0	90
82	Dä.	Farbe hellbraun; Konsistenz derb;	interstitielle Fibrose; kleine herdförmige Zellinfiltrate in Interstitium und Parenchym;	o.b.B.	-	45,7 18,7 10,5 25,2 -	-	103,9	-
52	Dä.	atrophischer Bezirk von Handgröße im distalen Bereich des linken Lappens;	interstitielle und intralobuläre Fibrose +; vereinzelt Zellinfiltrate in Interstitium und Parenchym;	o.b.B.	7,63	43,4 16,1 14,8 ++ 25,8	3,31 1,22 1,13 ++ 1,97	115,8 +	100
24	Hö.	makroskopisch o.b.B.	vereinzelt herdförmige Zellinfiltrate im Interstitium und perivaskulär; LL.peripher vermehrt fetthaltig;		7,05	26,4 -- 15,3 12,1 46,3 ++	1,86 -- 1,08 0,85 3,26 ++	104,5	60
94	Dä.	Farbe ockerbraun; Konsistenz fest-festweich;	interstitielle Fibrose +;intralobuläre Fibr.+-; im Interstitium diff.Zellinfiltr. LL.peripher vermehrt fetthaltig;	gleichsinnig	7,14	48,7 16,4 11,3 23,8 -	3,49 1,14 0,81 1,70 -	104,6	80
92	Dä.	Läppchenzeichnung deutlich;Farbe ockerbraun; Konsistenz mürbe-brüch.;	vereinzelt kleinste entzündliche Infiltrate im Parenchym; Leberläppchen diffus verfettet;	LL.diffus vermehrt fetthaltig;	7,39	44,6 17,2 12,6 + 25,6	3,30 1,27 0,93 + 1,89	110,5	80
79	Dä.	Farbe hell-rotbraun-grau; li.dorsal handtellergr. atrophischer Bezirk;	interstitielle Fibrose+(+); diffuse Zellinfiltrate im Interstitium; herdförmige wabige Entm.der LZ.	gleichsinnig, jedoch geringgradiger;	-	36,3 - 17,6 11,9 34,3 +	-	102,9	-

T a b e l l e 15

Vermehrung des Interstitiums (Fibrosen) der Leber

Nr.	Ra.	Makroskop. Leberbefund	Histologischer Leberbefund I	Hist.Leberbefund II	Ges.Eiw. g%	Eiweißfraktionen rel.%	Eiweißfraktionen g%	Pr.-Ind. %	Tak.-R. Gk./mg%
44	Hö.	Verwachsung des rechten Leberlappens mit dem Peritonaeum;	interstitielle Fibrose +; vereinzelt intralobuläre Fibrose +-;	o.b.B.	7,22	42,3 18,3 9,7 29,7	3,05 1,32 0,70 2,15	102,6	60
51	Dä.	hell-rotbraune Farbe; Konsistenz weich; Leber stark bluthaltig;	interstitielle Fibrose +; LL.stärker verfettet, besonders in der Peripherie;	o.b.B.	6,71	40,2 14,4 15,3 ++ 30,4	2,70 - 0,97 - 1,02 + 2,03	110,3	80
89	Dä.	ockerbraune Farbe; Läppchenzeichnung mässig deutlich;	interstitielle Fibrose +; LL.peripher vermehrt fetthaltig;	o.b.B.	7,67	38,8 - 20,7 + 9,0 31,6	2,97 1,58 + 0,69 2,42	114,5	60
90	Dä.	ockerbraune Farbe; Konsistenz weich;	interstitielle Fibrose +; LL.peripher vermehrt fetthaltig;	o.b.B.	8,28 +	40,0 19,0 11,1 30,0	3,31 1,57 + 0,91 + 2,48	106,8	70
49	Dä.	hellbraune Farbe; Konsistenz derb; li.ventral atrophischer Bezirk;	interstitielle Fibrose +;	o.b.B.	7,31	39,1 - 15,5 12,8 + 32,6	2,85 1,14 0,94 + 2,39	109,0	70
80	Dä.	Farbe hellbraun-grau; li.ventral atrophischer Bezirk von Handtellergröße;	interstitielle Fibrose +; Stauung:Zentralvenen erweitert, vermehrt von Bindegewebe umgeben; LL.peripher vermehrt fetthaltig;	gleichsinnig, jedoch geringgradiger;	8,50 +	38,1 - 16,3 12,6 + 33,1 +	3,24 1,38 1,07 ++ 2,82 +	102,3	70

Tabelle 16

verschiedengradige Leberverfettung; z.T. Stauungen

Nr.	Ra.	Makroskop.Leberbefund	Histologischer Leberbefund I	Hist.Leberbefund II	Ges.Eiw. g%	Eiweißfraktionen rel.%	Eiweißfraktionen g%	Pr.-Ind. %	Tak.-R. Gk./mg%
34	Dä.	makroskopisch o.b.B.	LL.-Grenzen undeutlich; LZ.-Balken gequollen; leichte Stauung; LL.diffus vermehrt fetthaltig;	gleichsinnig	7,82	-	-	92,4 -	50
35	Dä.	hellbraune Farbe; Leber stärker bluthaltig und leicht geschwollen;	leichte Stauung; LL.peripher stärker verfettet;	gleichsinnig	7,39	-	-	92,3 -	60
31	Dä.	hellbraune Farbe; Leber stärker bluthaltig;	leichte Stauung; LL.peripher vermehrt fetthaltig;	o.b.B.	8,24 +	-	-	92,9 -	70
37	Dä.	ockerbraune Farbe; Konsistenz leicht mürbe;	LL.-Grenzen undeutlich; leichte Stauung; LL.peripher und um erweiterte Zentralvenen vermehrt fetthaltig;	gleichsinnig	8,16	-	-	97,7	50
32	Dä.	hellbraune Farbe; Konsistenz etwas weich;	LL.-Grenzen undeutlich; LZ.-Balken gequollen; Leberläppchen diffus vermehrt fetthaltig;	gleichsinnig	7,43	-	-	96,0 -	70
38	Dä.	Farbe beige-bräunlich; Konsistenz weich-brüchig;	LL.peripher stärker verfettet;	gleichsinnig	7,26	38,2 - 17,9 11,5 32,4	2,77 1,30 0,84 2,35	105,3	60
91	Dä.	deutliche Läppchenzeichnung; Farbe ockerbraun;Konsistenz brüchig	LL.zentral stärker verfettet;	o.b.B.	7,65	28,5 -- 22,8 + 12,5 + 36,2 +	2,18 - 1,74 ++ 0,96 + 2,77 +	105,3	50
93	Dä.	makroskopisch o.b.B.	LL.-Grenzen undeutlich; LL.zentral stärker verfettet;	gleichsinnig	9,10 ++	45,4 11,8 - 12,4 + 30,6	4,12 + 1,08 1,12 ++ 2,79 +	118,0 +	80

Tabelle 17

Einzelbefunde

Nr.	Ra.	Makroskopischer Leberbefund	Histologischer Leberbefund I	Histologischer Leberbefund II	Ges.Eiw. g%	Eiweißfraktionen rel.%	Eiweißfraktionen g%	Pr.-Ind. %	Tak.-R. Gk./mg%
27	Hö.	Leberabszeß (zweifaustgroß);Leberschwellung	Abszeßkapsel	vereinzelt Zellinfiltrate in Interstit. und LL.; leichte Stauung;	7,07	40,6 17,2 10,0 32,3	2,86 1,22 0,71 2,28	107,9	50
23	Hö.	Leberabszeß (faustgroß)	Abszeßkapsel	-	9,01 ++	33,1 - 24,2 ++ 14,2 + 28,7	2,99 2,17 ++ 1,27 ++ 2,58 +	107,9	60
11	Hö.	einzelne miliare Tuberkulose-Herde im Lebergewebe; Leberlymphknoten tuberkulös	Lebergewebe o.b.B.	gleichsinnig	7,51	29,1 -- 19,4 11,4 40,1 ++	2,19 - 1,45 + 0,86 3,02 ++	100,6	40 +

Anmerkung:

Bei den Tieren Nr. 27, 23 und 11 wurden neben den Leberveränderungen folgende Befunde ermittelt:

Nr. 27 Reticulitis traumatica; Peritonitis;

Nr. 23 Reticulitis traumatica;

Nr. 11 Lungentuberkulose; Lungen- und Darmlymphknoten tuberkulös;

D. Untersuchungen an experimentell lebergeschädigten Rindern

Die Untersuchungen an experimentell lebergeschädigten Rindern, die als Verlaufsanalysen durchgeführt wurden, galten der Frage, ob die Serumeiweißanalyse, die Takata-Reaktion und die Plasma-Prothrombinzeitbestimmung geeignete Methoden zur Erkennung und Beurteilung akuter Hepatopathien des Rindes sind.

Experimentelle Leberschäden können bei Tieren durch orale Applikation von Tetrachlorkohlenstoff erzeugt werden. Sie bestehen je nach Höhe der Dosis und Anzahl der Verabreichungen in zentrolobulären Nekrosen, degenerativer Verfettung oder cirrhotischen Veränderungen (FRÖHNER u. VÖLKER, 1950; KNAUFF u. WINDSHEIMER, 1960).

Für die vorliegenden Untersuchungen wurden 4 klinisch gesunden Rindern zur Erzielung akuter reparabler Leberschäden nach zweimaliger Bestimmung der Ausgangswerte je 15 ml Tetrachlorkohlenstoff mit der Nasenschlundsonde verabreicht. Wegen der großen und individuell sehr unterschiedlichen Empfindlichkeit des Rindes gegenüber Tetrachlorkohlenstoff erhielten die Tiere jedoch zunächst nur eine Teildosis von 7,5 ml. 48 Stunden später wurden dann nach Kontrolle des klinischen Zustandes weitere 7,5 ml verabreicht. Vorausgehende Untersuchungen an der gleichen Klinik ergaben, daß dieser Applikationsmodus geeignet ist, um bei Rindern akute mittelgradige Leberschäden zu erzeugen, die reparabel sind (WERNER, 1960; HUHN, 1961).
Die klinischen Symptome bestanden bei 3 der 4 so intoxierten Tiere (Nr. I, II und IV) in vorübergehender Freßunlust, mittelgradiger Störung des Allgemeinbefindens und Durchfall. Bei den Versuchsrindern Nr. I und IV erschienen außerdem die Konjunktivalschleimhäute verwaschen. Am Tage nach der zweiten Tetrachlorkohlenstoffapplikation erreichten diese Störungen des Allgemeinbefindens den Höhepunkt. Zugleich zeigte das Rind Nr. IV an diesem Tage bei der Palpation der Leberregion Schmerzempfindlichkeit. Bei dem Versuchstier Nr. III äußerte sich die Intoxikation

klinisch lediglich in einer kurzfristigen Inappetenz nach der Verabreichung der zweiten Dosis. Eine Woche nach der zweiten Applikation waren bei den Tieren keine klinischen Symptome mehr zu erkennen.

Die Ergebnisse der bei diesen Versuchsrindern durchgeführten Laboruntersuchungen sind in den Abbildungen 2 bis 5 als Verlaufskurven graphisch wiedergegeben. Die über den Kurven befindlichen Pfeile zeigen dabei jeweils die Zeitpunkte der Tetrachlorkohlenstoffapplikationen an. Wegen der besseren Vergleichsmöglichkeit wurden die den Ergebnisssen der einzelnen Bestimmungsverfahren entsprechenden Kurvenzüge für alle 4 Tiere in gleichen Maßstäben gezeichnet.

Wie bei den an Schlachtrindern erzielten Ergebnissen, so wurden auch hier die bei der elektrophoretischen Serumeiweißanalyse erhaltenen Relativwerte zu den Ergebnissen aus der Gesamteiweißbestimmung in Beziehung gesetzt. Es sollte dadurch geprüft werden, ob die Erhöhung einzelner Proteinfraktionen in erster Linie auf Kosten anderer Serumeiweißkomponenten erfolgt oder mehr zu einem Anstieg der Gesamteiweißkonzentration führt. Außerdem ermöglichte die Ermittlung der absoluten Fraktionskonzentrationen den Vergleich zwischen der Höhe einzelner Proteinkomponenten und dem Ausfall der abgestuften Takata-Reaktion.

Die Laboruntersuchungen wurden bei jedem der Tiere über einen Zeitraum von zwei Wochen in Abständen von zwei bis vier Tagen vorgenommen. Darüber hinaus erfolgte am 24. bzw. 29. Tage eine nochmalige Bestimmung des Prothrombinindex.

Die nun folgenden Verlaufskurven zeigen, daß das Maximum der Abweichungen nicht zu einem einheitlichen Zeitpunkt, z.T. aber schon am Tage nach der ersten Applikation bestand. Die Ausgangswerte waren auch nach zwei Wochen nur teilweise wieder erreicht.

Abbildung 2

Graphische Darstellung der Untersuchungsergebnisse nach experimenteller Leberschädigung durch Tetrachlorkohlenstoffapplikation

Rind I

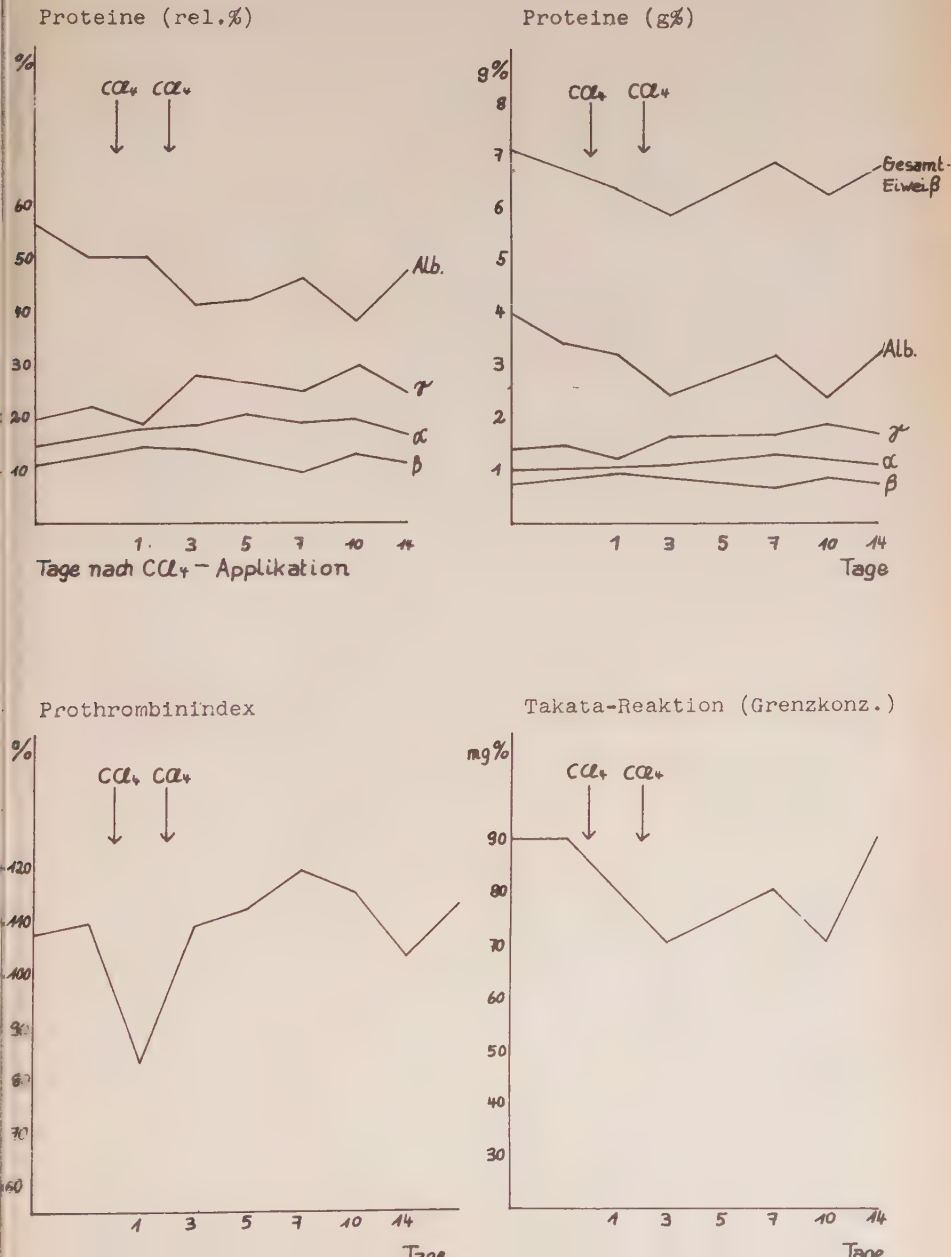
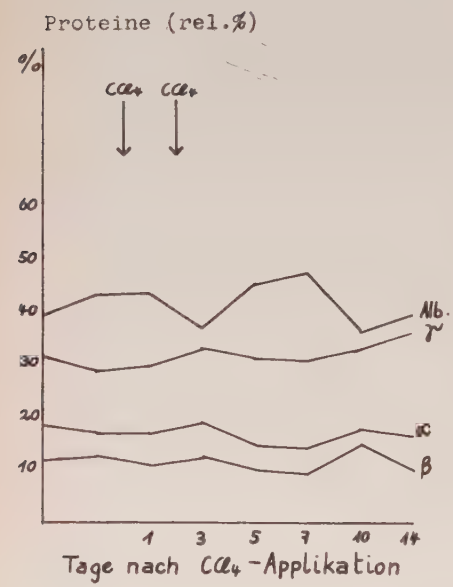
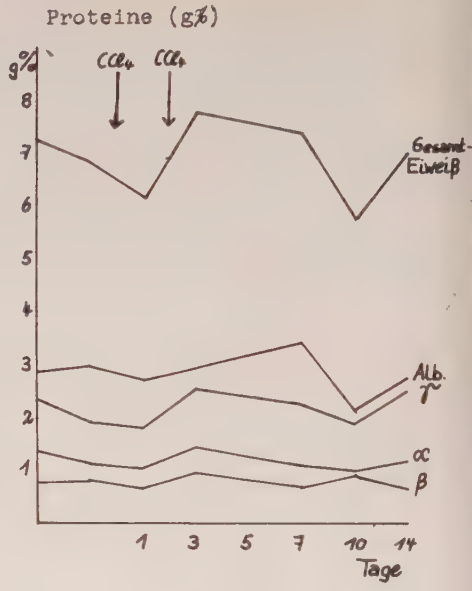


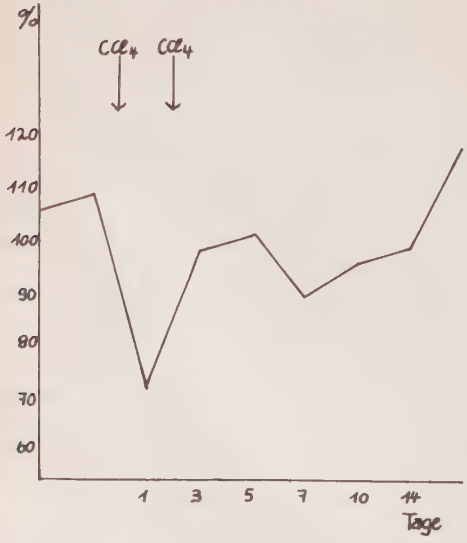
Abbildung 3

Graphische Darstellung der Untersuchungsergebnisse nach experimenteller Leberschädigung durch Tetrachlorkohlenstoffapplikation

Rind II







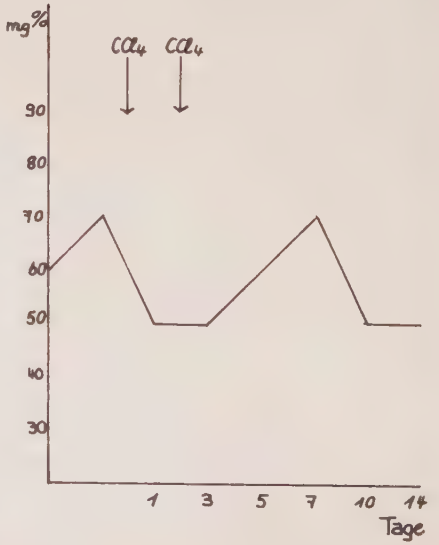
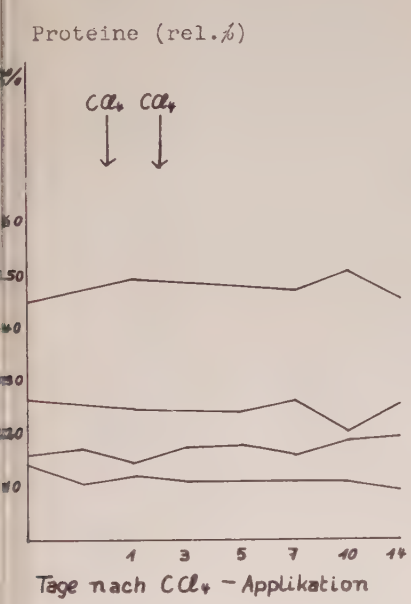
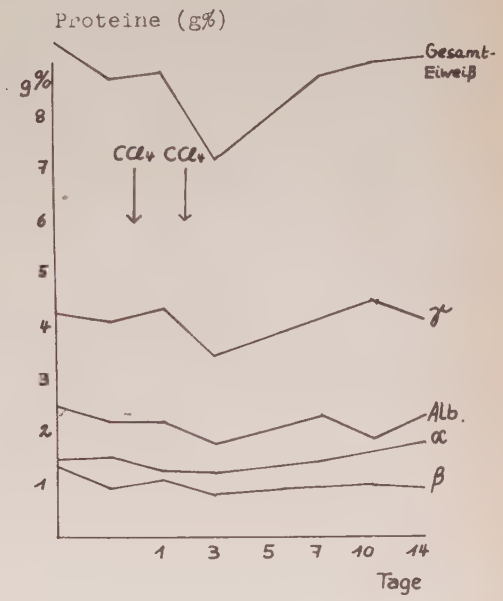


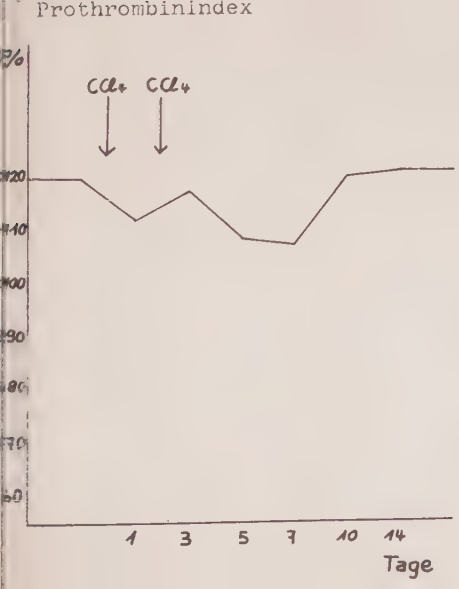
Abbildung 4

Graphische Darstellung der Untersuchungsergebnisse nach experimenteller Leberschädigung durch Tetrachlorkohlenstoffapplikation

Rind III







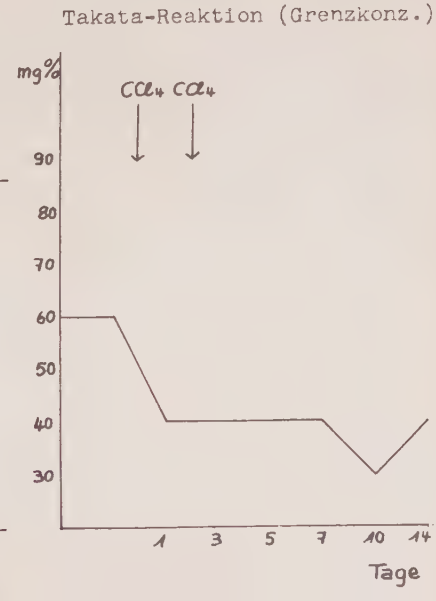
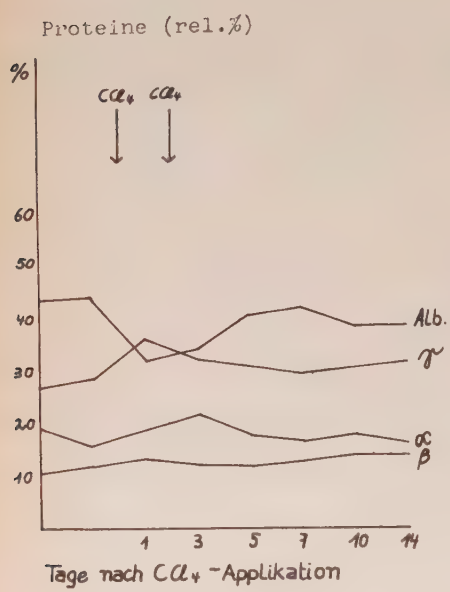
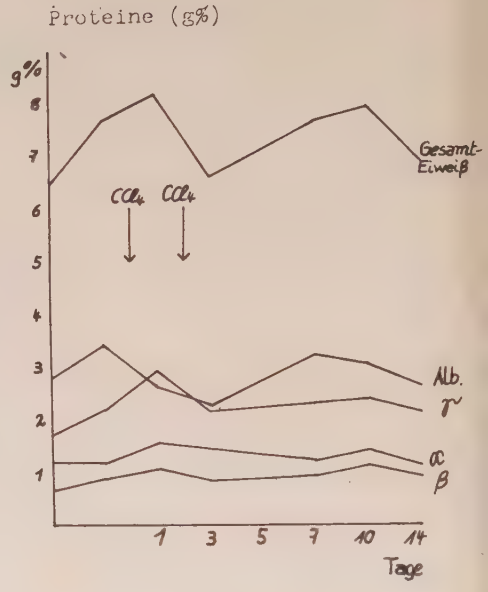


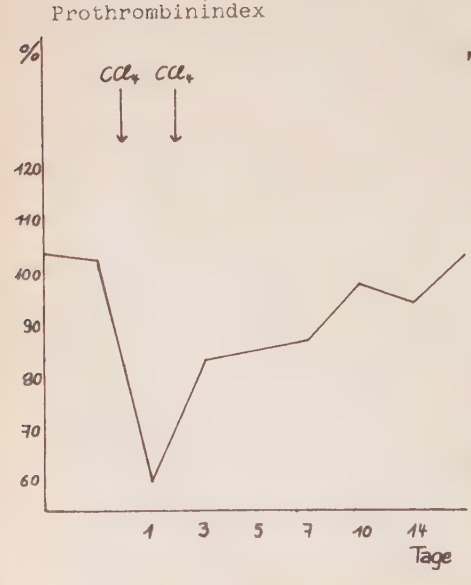
Abbildung 2

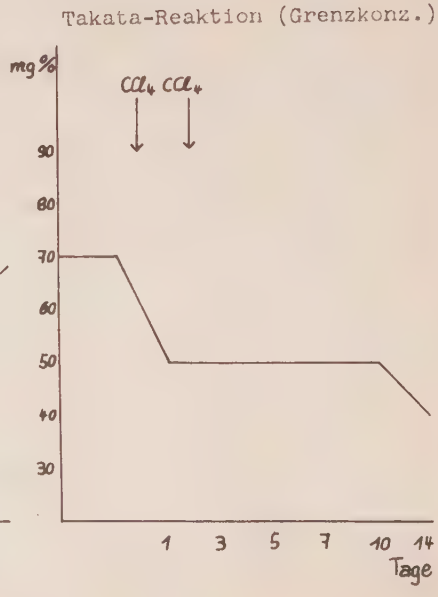
Graphische Darstellung der Untersuchungsergebnisse nach experimenteller Leberschädigung durch Tetrachlorkohlenstoffapplikation

Rind IV









E. Besprechung der Untersuchungsergebnisse

Klinische Laboruntersuchungen sind als Hilfsmittel für die Diagnostik nur dann brauchbar, wenn ihre Ergebnisse unter pathologischen Bedingungen signifikant von den Normalwerten abweichen. Die Signifikanz ist dann gegeben, wenn die Resultate eindeutig außerhalb des physiologischen Streubereichs liegen. Als Maßstab für diese Streuung gilt die mittlere oder quadratische Abweichung (σ -Wert). Ist die Differenz zwischen einem zu beurteilenden Untersuchungsergebnis und dem normalen Mittelwert kleiner als $\pm$ 1 σ , so kann dieses als normal angesehen werden. Dagegen sind Ergebnisse, die den Normalwert um mehr als $\pm$ 1 σ übersteigen, je nach der Größe der Abweichung entweder als verdächtig oder als pathognostisch zu beurteilen. Der Mittelwert einer größeren Anzahl von Untersuchungsergebnissen ist auch dann als pathognostisch anzusehen, wenn er in der Nähe des 1 σ -Bereichs der Normalwerte liegt. Bei Einzelfällen kann ein geringgradiges Überschreiten des σ -Wertes jedoch nur als verdächtig bewertet werden, weil dieses Streuungsmaß nicht die maximale, sondern die mittlere normale Abweichung angibt. Vielfach werden in der Literatur nur solche Ergebnisse als signifikant beurteilt, die mehr als $\pm$ 2 σ von den normalen Mittelwerten abweichen. Es ist dann auch im Einzelfall mit weitgehender Sicherheit auszuschließen, daß das erzielte Ergebnis im Normalbereich liegt. Wird die betreffende Laboruntersuchung in Verbindung mit anderen Tests und konventionellen klinischen Untersuchungen durchgeführt, so kann jedoch auch ein Ergebnis zur Diagnosestellung beitragen, das den Normalwert nur um mehr als $\pm$ 1 σ übersteigt. Besonders in der Leberdiagnostik können in Anbetracht der großen funktionellen Reserven und der Kompensationsfähigkeit dieses Organs bei den ohnehin schwer zu erfassenden leichten oder sich langsam entwickelnden Hepatopathien auch geringgradige Abweichungen von den Normalwerten einen diagnostischen Aussagewert besitzen.

In der vorliegenden Arbeit wurden bei der Auswertung der Ergebnisse deshalb auch solche Werte berücksichtigt, die

nur außerhalb des einfachen Streubereichs ($\pm$ 1 σ) lagen. Es wurde jedoch zwischen diesen Werten und denen, die die $\pm$ 2- σ -Grenze überschritten, unterschieden. In den Ergebnistabellen 10 bis 17 sind die Resultate, die mehr als $\pm$ 1 σ vom normalen Mittelwert abwichen, durch + bzw. - und Werte, die über die $\pm$ 2- σ -Grenze hinausgingen, durch ++ bzw. -- gekennzeichnet.

Bei der Beurteilung von Untersuchungsergebnissen muß nicht nur der physiologische, sondern auch der methodisch bedingte Streuwert berücksichtigt werden. In der Regel ist letzterer erheblich kleiner als die physiologischen Schwankungen, und der Wert einer Untersuchungsmethode wird umso größer, je geringer der methodische Fehler ist. Von besonderer Bedeutung ist die Größe der methodischen Streuung bei Verlaufsanalysen, weil hier nur diese und nicht die durch individuelle Verschiedenheiten mehrerer Tiere bedingte Schwankungsbreite bei der Auswertung zu berücksichtigen ist. Das gilt allerdings nur unter der Voraussetzung, daß die absoluten Werte des gesunden Individuums keinen über die methodischen Abweichungen hinausgehenden temporären Schwankungen unterworfen sind. Wie bereits im Literaturteil besprochen, treten beim einzelnen Rind auch unter normalen Bedingungen Konzentrationsunterschiede insbesondere der Serumeiweißwerte auf. Sie sind jedoch stets kleiner als die zwischen den Werten verschiedener Rinder bestehenden Differenzen, müssen aber bei der Auswertung von Verlaufsanalysen zumindest dann berücksichtigt werden, wenn nicht nur die Charakteristik des Kurvenzuges, sondern auch Teilergebnisse gesondert beurteilt werden sollen.

Im folgenden werden die im vorigen Abschnitt aufgeführten Ergebnisse in der dort vorgenommenen Einteilung unter Berücksichtigung der oben beschriebenen Problematik der Abgrenzung pathologischer Werte von weitstreuenden Normalwerten besprochen.

1. Untersuchungsergebnisse bei lebergeschädigten Schlachtrindern

Die elektrophoretische Serumeiweißanalyse, die Gesamteiweißbestimmung und die Takata-Reaktion sowie die Prothrom-

binbestimmung wurden bei insgesamt 76 Schlachtrindern, die verschiedene Leberschäden aufwiesen, durchgeführt.

Der Vergleich der dabei erzielten Ergebnisse mit den Normalwerten ergibt im Gesamtdurchschnitt folgendes Bild: Von den Serumproteinen war das Albumin in 82,4 % der Fälle relativ (in % des Gesamteiweißes) und in 69,7 % der Fälle auch absolut (in g%) erniedrigt. Nur bei 50 % der Gesamtzahl der Tiere konnte jedoch eine zu erwartende relative Albuminverminderung festgestellt werden, die über den - 1 σ -Bereich hinausging, und nur in 22 % der Fälle war der relative Albuminwert um mehr als - 2 σ vermindert. Die absoluten Albuminwerte lagen sogar nur zu 27 % unter der Grenze des einfachen σ -Bereiches, und lediglich in 11 % der Fälle wurde ein mehr als 2 σ vom Normalwert abweichender Albuminspiegel gefunden.

Für die α - und ß-Globuline lagen die Einzelergebnisse sowohl relativ als auch absolut im Streubereich der $\pm$ 2 σ-Grenze. Bei der α -Globulinfraktion war die Tendenz zur Erhöhung zwar in 63 (relativ) bzw. 72 (absolut) % der Fälle zu erkennen, doch überstieg der relative α -Wert nur bei 22 % und der absolute lediglich bei 41 % der Ergebnisse die mittlere physiologische Abweichung (+ 1 σ). Über der + 2 σ -Grenze der Normal- α -Globulinverteilung lagen nur 7 (relativ) bzw. 17 (absolut) % der Fälle. Von den ß-Globulinwerten lagen 65 (relativ) bzw. 62 (absolut) % über dem normalen Durchschnitt. Es überstiegen hier aber von der Gesamtzahl der Ergebnisse nur 28 % der relativen, dagegen 40 % der absoluten Werte den einfachen sowie 6 % der relativen und 17 % der absoluten Werte den doppelten + σ -Bereich. Eine Verminderung der ß-Globuline um mehr als - 1 σ bestand bei 15 (relativ) und 11 (absolut) % der untersuchten Tiere.

Die relativen γ -Globulinwerte lagen zu 75 % und die absoluten zu 72 % über dem Normalmittelwert. Davon gingen jedoch 49 (relativ) bzw. 44 (absolut) % der Einzelwerte nicht über den $\pm$ 1 σ -Bereich hinaus. Dagegen lagen 43 % der Relativwerte und 49 % der Absolutwerte oberhalb des

einfachen und 18 bzw. 23 % oberhalb des doppelten Streubereiches. Bei 9 (relativ) bzw. 7 (absolut) % der Fälle war das γ-Globulin um mehr als - 1 σ erniedrigt.

Das Mittel aller Gesamteiweißwerte zeigte mit 7,86 % eine geringgradige Erhöhung gegenüber dem Normalwert, die aber im Streubereich lag. Hier wiesen 69 % der Tiere erhöhte Werte auf, jedoch war das Gesamteiweiß nur bei 31 % um mehr als 1 σ und nur bei 15 % um mehr als 2 σ angestiegen. Ein außerhalb des σ -Bereichs liegender Gesamteiweißabfall konnte in 7 % der Fälle ermittelt werden.
Die Takata-Reaktion erbrachte von insgesamt 74 Fällen nur 7 mal ein positives Ergebnis (= 9,5 %).
Der Prothrombinindex war im Durchschnitt der Ergebnisse leicht vermindert. Das Mittel lag jedoch eindeutig innerhalb der normalen Schwankungsbreite ($\pm$ 1 σ). Prothrombinwerte unterhalb des einfachen σ-Bereiches wurden nur bei 18 von den 76 Tieren erzielt (= 24 %). Über den Normalbereich hinausgehende Indices konnten bei 2 Rindern ermittelt werden. - Von der Gesamtzahl der Fälle waren bei 56 Tieren (= 73 %) keine die $\pm$ 1 σ -Bereiche überschreitende Abweichungen nachzuweisen.

Die Mittelwerte aus allen bei den 76 lebergeschädigten Schlachtrindern erzielten Ergebnissen sind in der Tabelle 18 aufgeführt. Die dort und in den folgenden Zusammenstellungen in Klammern gesetzten Zahlen geben jeweils die Differenz zum normalen Mittelwert an.

Tabelle 18

Durchschnittswerte und Abweichungen () der Untersuchungsergebnisse bei 76 lebergeschädigten Schlachtrindern:

Serumeiweißanalyse	rel.%		g%	
Albumin	38,2	(- 6,1)	3,00	(- 0,30)
α -Globulin	18,1	(+ 1,7)	1,42	(+ 0,21)
ß-Globulin	11,0	(+ 0,6)	0,86	(+ 0,09)
γ -Globulin	32,7	(+ 3,7)	2,60	(+ 0,45)
Gesamteiweiß (g%):	7,86	(+ 0,44)		
Prothrombinindex (%):	102,0	(- 4,4)		

Takata-Reaktion: positive Ergebnisse in 9,5 % der Fälle

Es zeigt sich, daß im Gesamtdurchschnitt nur die elektrophoretische Serumeiweißanalyse von den Normalwerten abweichende Resultate bei verschiedenen Leberschäden des Rindes brachte. Während der relative Albuminwert um mehr als 1 σ unterhalb des Normalwertes lag, stiegen die relativen und absoluten γ-Globuline im Mittel um mehr als 1 σ an. Die Tendenz zur Erhöhung war auch bei den α - und ß-Globulinen gegeben, doch blieben die Durchschnittswerte für diese Fraktionen im normalen Schwankungsbereich. Die Tatsache, daß die Albuminverminderung bei den relativen Werten mehr zum Ausdruck kommt als bei den absoluten, während die γ-Globuline jeweils etwa im gleichen Umfang vermehrt sind, scheint dafür zu sprechen, daß die γ-Globulinerhöhung nur z.T. auf Kosten des Albumins geschieht. Das drückt sich auch durch die zwar geringgradige und noch im Streubereich liegende durchschnittliche Vermehrung des Gesamteiweißes aus.

Diese Ergebnisse bei Rindern unterscheiden sich von denen der Humanmedizin. Beim Menschen ist das Gesamteiweiß im Verlaufe von Lebererkrankungen in der Regel trotz erheblicher γ-Globulinerhöhung vermindert.

Auf die Frage, wieweit diese aus den mittleren Abweichungen gezogenen Schlüsse auch auf das einzelne Tier übertragbar sind, wird bei der folgenden Besprechung der Ergebnisse der verschiedenen Gruppen und Fälle eingegangen.

a) Distomatose

Von den 40 an Distomatose erkrankten Schlachtrindern konnten bei 36 mindestens mit einer der für die vorliegende Arbeit durchgeführten Laboruntersuchungen Ergebnisse erzielt werden, die um mehr als $\pm$ 1 σ von den Normalwerten abwichen.

Die Mehrzahl der Tiere zeigte ein verändertes Elektrophoresediagramm, während für das Gesamteiweiß, den Prothrombinindex und die Takata-Reaktion jeweils nur in einem geringen Prozentsatz der Fälle Abweichungen zu ermitteln

waren. Ebenso wie bei den Gesamtdurchschnitten der Serumeiweißwerte aller untersuchten lebergeschädigten Schlachtrinder ließen sich auch bei den Mittelwerten der 40 Distomatose-Rinder nur für die relativen Albumin- und für die relativen und absoluten γ-Globulinwerte außerhalb der mittleren normalen Streuung liegende Abweichungen ermitteln. Die durchschnittlichen α - und ß-Globulinwerte lagen sowohl relativ als auch absolut innerhalb der $\pm$ 1 σ-Grenzen. Hyperproteinämien bestanden bei 12 dieser Rinder. In 6 der Fälle lagen die Werte außerhalb des doppelten normalen Schwankungsbereichs. Bei 4 Tieren wurde ein unterhalb der mittleren physiologischen Streuung liegender Gesamteiweißwert gefunden. Der Durchschnitt aller an den Distomatose-Rindern erzielten Gesamteiweißwerte läßt eine geringgradige Erhöhung erkennen, liegt jedoch innerhalb der normalen Schwankungsbreiten und kann deshalb nicht als signifikant angesehen werden. Auch bei der Prothrombinbestimmung konnten lediglich bei 12 der von Leberegeln befallenen Rinder deutliche Abweichungen ermittelt werden. Prothrombinwerte, die die 2-σ-Grenze unterschritten, wurden in 2 Fällen festgestellt. Die Takata-Reaktion brachte lediglich in 5 von 40 Fällen Ergebnisse, die von den Normalwerten abwichen. Es ist aber zu betonen, daß dieser Test bei 2 Tieren positiv ausfiel, deren Serumeiweißbild keine Veränderungen aufwies.

In der Tabelle 19 sind die Mittelwerte aller an den Distomatose-Rindern erzielten Ergebnisse wiedergegeben.

Tabelle 19

Durchschnittswerte der Untersuchungsergebnisse von 40 Rindern mit distomatös veränderten Lebern

() = Differenzen zu den Normalwerten

Serumeiweißanalyse:	rel.%		g%	
Albumin	37,8	(- 6,5)	2,95	(- 0,35)
α -Globuline	18,1	(+ 1,6)	1,43	(+ 0,22)
ß-Globuline	10,5	(+ 0,1)	0,83	(+ 0,06)
γ -Globuline	33,7	(+ 4,7)	2,71	(+ 0,56)
Gesamteiweiß (g%):		7,92	(+ 0,50)	
Prothrombinindex (%):		100,6	(- 5,8)	
Takata-Reaktion:	in 5 von 40 Fällen positiv			

Ähnliche Werte für die Serumeiweißrelationen bei an Distomatose erkrankten Rindern ermittelten ZIMMERLI (1954) sowie MAGLAJLIC und Mitarbeiter (1959). Letztere Autoren fanden jedoch abweichend von den vorliegenden Ergebnissen gleichzeitig erniedrigte Gesamteiweißwerte. Dagegen konnte von BOGUTH (1954) der Anstieg der Gesamteiweißkonzentration für verschiedene Erkrankungen des Rindes nachgewiesen werden. Bei Distomatose-Rindern erhielt auch ALTMEYER (1939) nur vereinzelt positive Takata-Reaktionen (in 3 von 14 Fällen). MAGLAJLIC und Mitarbeiter (1959) ermittelten bei von Leberegeln befallenen Rindern im Durchschnitt auch verlängerte Prothrombinzeiten. Durch die Unterteilung der Fälle hoch-, mittel- und geringgradige Distomatose sollte im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen geprüft werden, ob die Ergebnisse von der Intensität der durch Fasciola hepatica verursachten Leberschäden abhängig sind. Wie aus den Tabellen 20 bis 22 ersichtlich, bestehen zwischen den Durchschnittsresultaten der drei Distomatosegruppen keine prinzipiellen Unterschiede. Während sich die Mittelwerte der hoch- und geringgradigen Fälle nahezu gleichen, bestehen allerdings zwischen diesen und den Durchschnittsergebnissen der Fälle von mittelgradiger Distomatose insofern Abweichungen, als hier die relativen Albumin- sowie die relativen und absoluten γ-Globulinwerte außerhalb des doppelten σ-Bereichs liegen und gleichzeitig die absoluten Albumin- und α-Globulin-Konzentrationen sowie das Gesamteiweiß die normale mittlere Streuung (1 σ) übersteigen. In Anbetracht der Uneinheitlichkeit der Einzelergebnisse und histologischen Befunde bei den drei Gruppen kann aus der relativen Gleichheit der Durchschnittswerte jedoch noch nicht der Schluß gezogen werden, daß der Ausfall der Ergebnisse vom Grad der Distomatose weitgehend unabhängig ist. Wie bereits betont, wurde die Einteilung in hoch-, mittel- und geringgradige Distomatose lediglich anhand der makroskopischen Untersuchungsbefunde vorgenommen. Diese deckten sich mit den histologischen Befunden in der Regel zwar hinsichtlich des Umfangs der Gallengangsveränderungen und der Vermehrung des interstitiellen Bindegewebes, nicht aber in bezug auf die Leberparenchymschäden und

Tabelle 20

Durchschnittswerte der Untersuchungsergebnisse von 12 Rindern, die an hochgradiger Distomatose erkrankt waren

() = Differenzen zu den Normalwerten

Serumeiweißanalyse:	rel.%		g%	
Albumin	36,3	(- 8,0)	2,81	(- 0,49)
α -Globulin	18,8	(+ 2,4)	1,48	(+ 0,27)
ß-Globulin	11,5	(+ 1,1)	0,92	(+ 0,18)
γ -Globulin	33,3	(+ 4,3)	2,63	(+ 0,48)
Gesamteiweiß (g%):			7,84	(+ 0,42)
Prothrombinindex (%):			98,6	(- 7,8)
Takata-Reaktion:	in 2 von 12 Fällen positiv			

Tabelle 21

Durchschnittswerte der Untersuchungsergebnisse von 7 an mittelgradiger Distomatose erkrankten Rindern

() = Differenzen zu den Normalwerten

Serumeiweißanalyse:	rel.%		g%	
Albumin	33,7	(- 10,6)	2,72	(- 0,58)
α -Globulin	17,5	(+ 1,1)	1,49	(+ 0,28)
ß-Globulin	9,5	(- 0,9)	0,80	(+ 0,03)
γ -Globulin	39,1	(+ 10,1)	3,38	(+ 1,23)
Gesamteiweiß (g%):			8,39	(+ 0.97)
Prothrombinindex (%):			100,4	(- 6,0)
Takata-Reaktion:	in 1 von 7 Fällen positiv			

Tabelle 22

Durchschnittswerte der Untersuchungsergebnisse von 21 Rindern, die an geringgradiger Distomatose litten

() = Differenzen zu den Normalwerten

Serumeiweißanalyse	rel.%		g%	
Albumin	40,3	(- 4,0)	3,12	(- 0,18)
α -Globulin	17,7	(+ 1,3)	1,38	(+ 0,17)
ß-Globulin	10,3	(- 0,1)	0,79	(+ 0,02)
γ -Globulin	32,1	(+ 3,1)	2,52	(+ 0,37)
Gesamteiweiß (g%):			7,80	(+ 0,38)
Prothrombinindex (%):			101,9	(- 4,5)
Takata-Reaktion:	in 2 von 21 Fällen positiv			

entzündlichen Veränderungen. Derartige Prozesse wurden sowohl bei hochgradigem als auch bei geringem Leberegelbefall gefunden. Ein besonders großer Prozentsatz von Leberparenchymschäden konnte allerdings in der Gruppe der mittelgradigen Distomatosen ermitteltwerden. Es handelt sich hier jedoch nur um insgesamt 7 Tiere, von denen aber 5 Leberzelldegenerationen bzw. -nekrosen aufwiesen. Die beiden anderen Gruppen bestanden aus etwa doppelt bzw. dreimal sovielen Tieren, von denen jedoch jeweils nur ein kleiner Teil (je 3 Tiere) Veränderungen im Parenchym erkennen ließ. Irgendwelche Schlüsse über das prozentuale Auftreten von Leberparenchymschäden bei verschiedengradigen Distomatosefällen können aus diesen histologischen Befunden nicht gezogen werden, dazu bedarf es eines wesentlich umfangreicheren Materials. Es fällt aber auf, daß die Durchschnittsergebnisse bei der Gruppe, die sich vor allem aus Fällen mit Parenchymschäden zusammensetzt, am stärksten von den Normalwerten abweichen. Das deutet darauf hin, daß die Veränderungen innerhalb der Leberläppchen einen größeren Einfluß auf das Serumeiweißbild haben als die pericholangiolären und interstitiellen Prozesse. Bei der Einzelbeurteilung aller Ergebnisse der Serumeiweißanalyse bei durch Leberparenchymschädigung besonders gekennzeichneten Distomatose-Fällen kommt man zu den gleichen Resultaten wie bei den Durchschnittswerten. Es muß dabei allerdings betont werder, daß zwar - mit einer Ausnahme - bei allen leberparenchymgeschädigten Distomatose-Rindern außerhalb des Normalbereichs liegende Serumeiweißwerte nachgewiesen wurden, daß aber diese Abweichungen sehr unterschiedlicher Art waren. Während bei einigen Tieren nur Albumin und die γ-Globuline betroffen waren, ließen sich bei anderen zugleich oder ausschließlich erhöhte Werte für das α - und ß-Globulin feststellen. Die ß-Globuline erwiesen sich dabei als am indifferentesten. Dagegen war das absolute α -Globulin in 7 der insgesamt 11 Distomatose-Fälle mit Leberparenchymschäden über den 1 σ-Bereich vermehrt und lag nur in einem Fall etwas unterhalb des Normalwertes, aber auch da noch im Streubereich. Für die relativen α -Globulinwerte gilt das Gesagte nur in sehr

beschränktem Umfang. Hier konnten lediglich in 3 Fällen über den Normalbereich hinausgehende Erhöhungen dieser Fraktion bei den mit Leberparenchymschädigung verbundenen Distomatose-Fällen ermittelt werden. Deutliche α-Globulinvermehrungen wurden auch bei Distomatosen, die zu intralobulären Fibrosen geführt hatten, gefunden. Außer bei den bisher genannten Veränderungen in den Leberläppchen bei den durch Distomatose bedingten Leberschäden bestanden erhöhte α-Globulinwerte auch in Fällen von geringgradiger Leberstauung (die sich aber z.T. mit den oben erwähnten Befunden überschneiden) und vereinzelt beim Vorliegen von entzündlichen Infiltraten.

Diese Ergebnisse scheinen dafür zu sprechen, daß eine absolute Vermehrung der α-Globuline auf eine Schädigung des Leberparenchyms hindeutet. In dem Zusammenhang ist noch besonders zu erwähnen, daß die α-Globuline z.T. erheblich anstiegen, obwohl in allen Fällen von Leberegelbefall, bei denen intralobuläre Veränderungen festgestellt wurden, jeweils nur ein kleiner Teil der Parenchymzellen betroffen war. Bei der Auswertung der weiteren Untersuchungsergebnisse wird noch zu besprechen sein, in welchem Umfang für die α-Globuline ähnliche Konzentrationsverschiedenheiten auch bei anderen, nicht durch Distomatose bedingten Leberzellschäden auftreten.

Die Ergebnisse für die ß-Globuline wichen bei der Mehrzahl der an Distomatose erkrankten Tiere nur unerheblich von den Normalwerten ab. Vereinzelt wurden allerdings auch ß-Anstiege ermittelt, die die doppelte normale Streuung überschritten. Irgendwelche Beziehungen zwischen den makroskopischen und histologischen Leberbefunden und der Höhe der ß-Globulinkonzentration waren jedoch nicht zu erkennen. Die im Durchschnitt deutlichsten Verschiebungen im Bluteiweißbild konnten für die Albumin- und die γ-Globulinfraktion nachgewiesen werden. Doch zeigten auch hier nicht alle Tiere signifikante Abweichungen. In der Regel waren die Konzentrationsveränderungen aber umso deutlicher, je stärkere distomatöse Veränderungen bestanden. Dagegen wurden in Einzelfällen selbst bei hochgradiger Distomatose

Serumeiweißverhältnisse ermittelt, die den Normalwerten weitgehend glichen.

Gleichzeitig mit absoluten γ-Globulinvermehrungen bestand regelmäßig eine Erhöhung des Gesamteiweißwertes. Wie bereits bei der Beurteilung der Gesamtdurchschnittswerte erkennbar war, ergibt sich auch bei der Prüfung der Einzelfälle, daß eine Erhöhung der γ-Globulinkonzentration nicht nur auf Kosten der Albuminfraktion erfolgt, sondern auch zu einem Anstieg des gesamten Serum-Proteinspiegels führt. Deutliche Zunahmen des Gesamteiweißwertes erwiesen sich bei den untersuchten Fällen als unabhängig von der Stärke des Leberegelbefalls, sie traten aber nur in solchen Fällen auf, bei denen Veränderungen in den Leberläppchen (Nekrosen, Degenerationen, entzündliche Prozesse) nachgewiesen wurden. Von einem regelmäßigen Anstieg der Gesamteiweißkonzentration kann jedoch auch bei solchen Fällen nicht gesprochen werden.

Die Takata-Reaktion fiel bei den 40 Distomatose-Rindern nur in 5 Fällen positiv aus. Auch hier verteilen sich die vom Normalbereich abweichenden Ergebnisse über die Gruppen von hoch-, mittel- und geringgradiger Distomatose etwa gleichmäßig. Die positiven Flockungen wurden aber nur bei solchen Tieren ermittelt, deren Lebern parenchymatöse Veränderungen aufwiesen. Dabei ist noch besonders zu erwähnen, daß pathologische Flockungsergebnisse in zwei Fällen gefunden wurden, bei denen die Serumeiweißanalyse und Gesamteiweißbestimmung normale Werte erbrachten. Bei einem der beiden Tiere erschien die absolute Albuminkonzentration sogar leicht erhöht.

Der Durchschnitt aller bei Distomatose-Rindern ermittelten Prothrombinwerte läßt zwar die Tendenz zum Abfall erkennen, liegt aber noch im Normalbereich, so daß von einer Abweichung nicht gesprochen werden kann. Soweit überhaupt gesicherte Prothrombinverminderungen erhalten wurden, erwiesen sich diese als in keiner Weise von der Stärke und Art der Leberveränderungen abhängig. Sie bestanden teils bei Tieren mit stärker geschädigten Lebern, teils bei solchen, deren Leber nur geringgradig verändert war.

b) Verschiedene Leberschäden

Die Problematik der Einteilung der neben den Distomatose-Fällen noch untersuchten Rinder mit Leberveränderungen wurde bereits im vorigen Abschnitt dargelegt. Es handelte sich hier um makroskopisch sehr unterschiedliche, in der Regel geringgradige Leberschäden, die nur anhand der histologischen Befunde definiert und in Gruppen zusammengefaßt werden konnten.

Da bei einem Teil dieser Fälle - abgesehen von den cholangitischen und pericholangiolären Veränderungen - ähnliche pathologisch-histologische Verhältnisse gefunden wurden wie bei den von Leberegeln befallenen Tieren, interessierte der Vergleich der Ergebnisse der Laboruntersuchungen an letzteren mit den bei anderen Rindern mit Leberschäden erzielten Resultaten. Durch diese Gegenüberstellung der Werte sollte geprüft werden, ob Differenzen zwischen den Ergebnissen von solchen Fällen erkennbar sind, die sich bei sonst gleichartigen pathologisch-histologischen Verhältnissen nur hinsichtlich des Zustandes der Gallengänge unterscheiden.

Bei 6 der 7 elektrophoretisch untersuchten Rinder mit Parenchymschäden konnte ebenso wie bei mehreren mit Leberzellnekrosen und -degenerationen verbundenen Distomatosen eine deutliche Erhöhung der absoluten α -Globulinkonzentration nachgewiesen werden. Auch für die hier besprochenen Fälle gilt, daß diese Dysproteinämien bei den auf das Gesamteiweiß bezogenen Resultaten deutlicher in Erscheinung treten als bei den Relativwerten.

Es fällt auf, daß bei dieser Gruppe im Durchschnitt der Fälle kein gesicherter Anstieg des γ-Globulins zu erkennen und daß das Albumin nur sehr geringgradig - wenn auch um mehr als 1 σ -vermindert ist. Dagegen konnte in 3 der 7 Fälle eine gesicherte ß-Hyperglobulinämie ermittelt werden. Das Gesamteiweiß war bei 2 Tieren erhöht. Die Takata-Reaktion erbrachte nur in einem Fall ein positives Ergebnis. Für das Prothrombin wurden in dieser Gruppe ausschließlich

innerhalb der normalen Streuung liegende Werte gefunden.

Die Mittelwerte der an den Rindern mit Leberzellschäden erzielten Untersuchungsergebnisse sind in Tabelle 23 aufgeführt. Dabei sind die Werte des in Tabelle 13 bei der Gruppe "Leberzellschäden" mit-genannten Tieres Nr. 39 nicht berücksichtigt, da es nur bedingt diesen Fällen zugerechnet werden kann. (Es lag hier eine wabige Entmischung der Leberzellen vor.) Auffallend ist, daß bei diesem Tier eine relative und absolute starke Erhöhung des Albumins bestand, die auch zu einem erheblichen Anstieg der Gesamteiweißkonzentration geführt hatte. Wieweit diese Hyperalbuminämie mit den Veränderungen im Leberzellplasma in Verbindung gebracht werden kann, muß dahingestellt bleiben.

Tabelle 23

Durchschnittswerte der Untersuchungsergebnisse von 7 Rindern mit nachgewiesenen Leberparenchymschäden

() = Differenzen zu den Normalwerten

Serumeiweißanalyse:	rel.%		g%	
Albumin	38,2	(- 6,1)	3,01	(- 0,29)
α -Globulin	20,4	(+ 4,0)	1,61	(+ 0,40)
ß-Globulin	11,9	(+ 1,5)	0,94	(+ 0,17)
γ -Globulin	29,7	(+ 0,7)	2,35	(+ 0,20)
Gesamteiweiß (g%):			7,77	(+ 0,35)
Prothrombinindex (%):			102,5	(- 3,9)
Takata-Reaktion:	in 1 Fall positiv			

Bei der Gegenüberstellung der Ergebnisse der hier dargelegten Fälle mit den Werten, die an Distomatose-Rindern mit ähnlichen pathologisch-histologischen Leberveränderungen ermittelt wurden, kann festgestellt werden, daß eine weitgehende Übereinstimmung hinsichtlich der α -Globulinzunahme bestand. Dagegen waren die Verschiebungen für Albumin und γ-Globulin hier weniger deutlich als bei Distomatosen mit gleichartigen und gleichgradigen intralobulären und interstitiellen Veränderungen. Das gleiche

gilt für die Gesamteiweißwerte. Unterschiedliche Werte wurden auch für die ß-Globuline ermittelt. Ein Zusammenhang zwischen den hier in 3 Fällen gefundenen ß-Hyperglobulinämien und bestimmten pathologischen Prozessen war nicht zu erkennen. Auch zeichnete sich das Rind, bei dem die Takata-Reaktion positiv war, gegenüber anderen Tieren dieser Gruppe nicht durch Besonderheiten im mikroskopischen Leberbefund aus. Wie schon bei anderen Fällen, so zeigte sich auch hier, daß der positive Ausfall der Takata-Reaktion beim Rind zumindestens nicht immer durch eine wesentliche quantitative Verschiebung im Serumeiweißbild bedingt zu sein scheint.

Sehr unterschiedliche Ergebnisse wurden bei den Tieren erhalten, die Zellinfiltrate im Parenchym und im Interstitium aufwiesen. Die Mittelwerte der bei diesen Rindern erzielten Einzelergebnisse liegen sämtlich in den Normalbereichen (Tabelle 24). Auch bei der getrennten Beurteilung der Fälle, die entzündliche Infiltrate in den Leberläppchen erkennen ließen, und der Fälle, die nur im Interstitium Zellinfiltrate aufwiesen, waren jeweils keine für diese Veränderungen charakteristischen Abweichungen im Serumeiweißbild oder für den Prothrombinindex zu erkennen. Die Takata-Reaktion fiel bei allen Tieren dieser Gruppe negativ aus.

Tabelle 24

Durchschnittswerte der Untersuchungsergebnisse von 10 Rindern, bei denen zellige Infiltrate im Parenchym und Interstitium der Leber nachgewiesen wurden

() = Differenzen zu den Normalwerten

Serumeiweißanalyse:	rel.%		g%	
Albumin	39,4	(- 4,9)	3,03	(- 0,27)
α -Globulin	17,4	(+ 1,0)	1,28	(+ 0,07)
ß-Globulin	11,6	(+ 1,2)	0,85	(+ 0,08)
γ -Globulin	31,7	(+ 2,7)	2,50	(+ 0,35)
Gesamteiweiß (g%):		7,70	(+ 0,28)	
Prothrombinindex (%):		103,9	(- 2,5)	
Takata-Reaktion:	keine positiven Ergebnisse			

Durchschnittlich wurden bei den Fällen von geringgradiger Distomatose mit zelligen Infiltraten stärkere Verschiebungen im Bluteiweißbild gefunden als bei den hier besprochenen, obwohl sie - abgesehen von den cholangitischen Veränderungen - soweit auch hier interstitielle Fibrosen vorlagen, weitgehend mit diesen vergleichbar sind. Es ist besonders zu erwähnen, daß das γ-Globulin selbst bei solchen bindegewebigen Hypertrophien nur in einem Teil dieser Fälle erhöht und einmal sogar vermindert war.

Ähnliche Ergebnisse für die γ-Globuline wurden auch an den Tieren, bei denen in der Leber nur interstitielle Fibrosen und z.T. Verfettungen der Läppchen nachgewiesen werden konnten, ermittelt. In keinem Fall war hier der γ-Anteil am Serumprotein vermehrt. Bei einem Tier wurde ein völlig normales Eiweißbild gefunden, die anderen wiesen teilweise α - und ß-Globulinerhöhungen unterschiedlichen Grades auf. In 2 Fällen dieser Gruppe war das Albumin relativ und in einem anderen Fall absolut vermindert.

Deutlichere Abweichungen bestanden bei einem Rind, bei dem die interstitiellen Veränderungen und peripheren Fetteinlagerungen in den Läppchen stauungsbedingt gewesen sein dürften (Nr. 80). Hier lag relativ eine Albuminverminderung und eine Vermehrung der ß- und γ-Globuline sowie, bezogen auf das Gesamteiweiß, ein stärkerer Anstieg der ß-Fraktion und eine Erhöhung der γ-Konzentration vor. Die Prothrombinbestimmung und die Takata-Reaktion lieferten in dieser Gruppe ausnahmslos normale Werte.

Tabelle 25

Durchschnittswerte der Untersuchungsergebnisse von 5 Rindern, die interstitielle Fibrosen in der Leber aufwiesen

() = Differenzen zu den Normalwerten

	rel.%		g%	
Serumeiweißanalyse:				
Albumin:	38,5	(- 5,8)	2,98	(- 0,32)
α -Globulin	17,6	(+ 1,2)	1,32	(+ 0,11)
ß-Globulin	11,6	(+ 1,2)	0,85	(+ 0,08)
γ -Globulin	30,9	(+ 1,9)	2,29	(+ 0,14)
Gesamteiweiß (g%):			7,44	(+ 0,02)
Prothrombinindex (%):			108,6	(+ 2,2)
Takata-Reaktion:	**keine positiven Ergebnisse**			

Wie aus Tabelle 25 ersichtlich, war im Durchschnitt dieser Fälle das relative Albumin um mehr als 1 σ vermindert, obwohl der Wert für diese Fraktion nur bei 2 Tieren einen eindeutigen Abfall zeigte. Alle übrigen mittleren Ergebnisse überschritten die normalen Streuungsbreiten nicht. (Das Tier Nr. 80 blieb bei dieser Berechnung der Mittelwerte unberücksichtigt.)

Vergleichend ist festzustellen, daß auch bei den Fällen von geringgradiger Distomatose mit nur wenig umfangreichen interstitiellen Fibrosen trotz der gleichzeitig bestehenden Cholangitiden nur vereinzelt γ-Globulinvermehrungen gefunden wurden.

Sehr unspezifische und zum größten Teil noch innerhalb des $\pm$ 1 σ -Bereichs liegende Werte wurden auch bei 8 Tieren ermittelt, bei denen verschiedengradige Verfettungen und stauungsbedingte Alterationen in den Leberläppchen bestanden, während sich das Interstitium als normal erwies. Auf die Ergebnisse der Prothrombinbestimmung und der Takata-Reaktion hatten Verfettungen und Stauungen, die nicht mit weiteren histologisch nachweisbaren Veränderungen verbunden waren, keinen Einfluß. Das Gesamteiweiß war hier in 2 nicht durch Besonderheiten im Leberbefund hervortretenden Fällen erhöht. Soweit die Ergebnisse der Papierelektrophorese bei diesen Tieren vorliegen, kann gesagt werden, daß nur bei 2 Tieren mit zentraler stärkerer Leberverfettung gesicherte, jedoch unterschiedliche Abweichungen ermittelt werden konnten, während bei einem Tier mit peripherer Leberverfettung - abgesehen von einer geringen relativen Albuminverminderung - keine Verschiebungen im Serumeiweißbild zu erkennen waren.

Zusammenfassend ergibt sich bei der Auswertung aller Ergebnisse, die bei den Rindern mit Leberzellschäden, intralobulären und interstitiellen zelligen Infiltraten, interstitiellen Fibrosen sowie Verfettungen und Stauungen in der Leber erzielt wurden, daß nur beim Vorliegen von Leberzellnekrosen bzw. -degenerationen und entzündlichen Infiltraten in der Mehrzahl der Fälle deutliche Verschiebungen im Serumeiweißbild bestanden.

Während zwischen den entzündlichen Leberveränderungen und dem Ausfall der durchgeführten Laboruntersuchungen keine spezifischen Beziehungen zu erkennen waren, konnte, wie schon bei den Distomatose-Fällen, eine Erhöhung der absoluten α -Globulinkonzentration bei den meisten durch Leberparenchymschäden gekennzeichneten Fällen auch hier nachgewiesen werden. Dazu ist noch besonders zu bemerken, daß es sich ausschließlich um solche degenerativen Veränderungen handelte, die nur einen geringen Teil des funktionellen Gewebes betrafen, da jeweils lediglich ein kleiner Prozentsatz der Läppchen bzw. der Leberzellen geschädigt war. Gleichzeitig mit diesen Befunden wurden in den betreffenden Lebern regelmäßig noch weitere Veränderungen (vor allem Fibrosen und Verfettungen) nachgewiesen. Daraus ergibt sich, daß es sich hier nicht um akute Schäden sondern um chronische, sich ausbreitende oder allenfalls um subakute Hepatopathien handelte. Auch die mit Leberzelldegenerationen bzw. -nekrosen verbundenen Distomatose-Fälle sind nicht als akute Lebererkrankungen zu bezeichnen. Die degenerativen Parenchymveränderungen können hier ebenfalls als Anzeichen chronisch fortschreitender Prozesse gedeutet werden. Hinsichtlich der Vermehrung der α -Globuline muß jedoch betont werden, daß diese nicht ausschließlich beim Vorliegen von degenerativen Alterationen in den Läppchen sondern auch bei einzelnen anderen Fällen gefunden wurden, so daß von einer strengen Spezifität nicht zu sprechen ist.

Während bei den Distomatose-Tieren z.T. gewisse Relationen zwischen der Intensität der Leberveränderungen und der Höhe der Albumin- und γ-Globulinwerte zu bestehen schienen, sind derartige Beziehungen bei den übrigen Fällen nicht zu erkennen. Dabei muß allerdings berücksichtigt werden, daß letztere hinsichtlich ihrer Stärke höchstens mit den Fällen von geringgradiger Distomatose vergleichbar sind, wo ebenfalls nur vereinzelt und unabhängig von der Art der Leberbefunde Konzentrationsverschiebungen dieser Fraktionen zu erkennen waren. Das gilt auch beim Vergleich der hier ebenfalls nur sporadisch erhöhten Gesamteiweißwerte und den Resultaten der nur in einem Fall positiven

Takata-Reaktion mit den entsprechenden Ergebnissen bei Distomatosen. Bei den hier dargelegten Fällen wurden ausschließlich im Normalbereich liegende Prothrombinwerte erhalten. Dagegen war der Prothrombinindex bei mehreren Tieren mit leichten distomatösen Leberveränderungen deutlich vermindert.

Neben den bisher besprochenen Fällen wurden noch drei weitere Schlachtrinder untersucht. Zwei Tiere mit fremdkörperbedingten Leberabszessen wiesen sehr unterschiedliche Serumeiweiß- und Prothrombinwerte auf, obwohl sich beide Fälle hinsichtlich des pathologisch-anatomischen Befundes weitgehend glichen. Während an dem Rind Nr. 23 eine erhebliche Dysproteinämie mit besonders hervortretender absoluter Vermehrung der α - und ß-Globuline und des Gesamteiweißwertes bestand, zeigte das Tier Nr. 27 ein völlig normales Serumeiweißbild. Auf Grund des Leberbefundes (großer Abszeß, Stauung) wären jedoch auch bei letzterem stärkere Abweichungen der Untersuchungsergebnisse zu erwarten gewesen. Eine Ursache für das unterschiedliche Verhalten war nicht zu erkennen. In beiden Fällen waren der Prothrombinindex und die Takata-Flockung im Normalbereich. Bei einem Fall von Tuberkulose mit geringgradiger Leberbeteiligung wurde eine den doppelten normalen Streubereich überschreitende γ-Globulinvermehrung bei entsprechender Albuminverminderung ermittelt. Das Gesamteiweiß war nicht erhöht, die γ-Globulinzubildung erfolgte hier also ausschließlich auf Kosten der Albuminfraktion. Gleichzeitig fiel auch die Takata-Reaktion positiv aus. Zu diesem Fall ist allerdings zu bemerken, daß in der Leber nur einzelne miliare Tuberkulose-Herde nachgewiesen wurden, während das Lebergewebe im übrigen keine Veränderungen aufwies.

c) Untersuchungen an experimentell lebergeschädigten Rindern

Wie aus der graphischen Darstellung der Untersuchungsergebnisse in den Abbildungen 2 bis 5 ersichtlich ist, wurden bei allen 4 mit Tetrachlorkohlenstoff intoxierten Rindern

deutliche pathologische Abweichungen von den Ausgangswerten erhalten. Bei den Tieren Nr. I, II und IV bewegten sich die Werte jeweils zum gleichen Zeitpunkt auf und ab. Etwas anders geartet und nicht so deutlich erschienen die Abweichungen bei Tier Nr. III. Dazu ist zu sagen, daß dieses Rind schon außerhalb der Normalbereiche liegende Ausgangswerte aufwies. Es bestand hier eine allgemeine Hyperproteinämie und wohl als Folge derselben auch eine Hyperkoagulämie. Gründe für diese Verschiebungen der Werte konnten nicht ermittelt werden. Die Durchführung des Bromsulphalein-Tests vor der Tetrachlorkohlenstoffapplikation ergab eine Retention von nur 1,0 %, so daß bei diesem Tier das Vorliegen eines bereits vor dem Versuch bestehenden Leberschadens weitgehend ausgeschlossen werden kann.
Die erheblichsten Differenzen zu den Normalwerten konnten für den Prothrombinindex ermittelt werden. Hier traten starke Verminderungen bereits am Tage nach der ersten Tetrachlorkohlenstoff-Verabreichung auf. Anschließend stieg der Prothrombinindex steil wieder an und überschritt z.T. sogar die Ausgangswerte, um dann erneut leicht abzusinken und schließlich nochmals anzusteigen.
Einen ähnlich wellenförmigen Verlauf zeigen die Ergebniskurven für das Gesamteiweiß und die Albuminfraktion. Auch schwankten die Grenzkonzentrationen für die Takata-Reaktion ungefähr im gleichen Ausmaß wie die übrigen Ergebnisse. Eine Parallelität zwischen dem Ausfall der Takata-Reaktion und der Höhe der Albuminkonzentration schien bei allen vier Fällen, besonders aber bei dem Tier Nr. I zu bestehen. Die niedrigsten Werte für die Takata-Reaktion wurden allerdings bei zwei der Tiere erst nach 10 bzw. 14 Tagen erreicht. Zur gleichen Zeit war dabei jedoch auch das Albumin erneut vermindert. Nur relativ geringe Schwankungen traten bei den Globulinen auf. Vorübergehend war hier die Tendenz zum Anstieg bei allen Fraktionen gegeben. In Anbetracht der relativ großen Differenzen schon der Ausgangswerte untereinander erscheint eine weitergehende Beurteilung dieser geringen Abweichungen der Globulinkonzentrationen fragwürdig. Es kann jedoch festgestellt werden, daß eine so deutliche α -Globulinerhöhung wie bei der

Mehrzahl der chronischen Hepatopathien, die mit m.o.w. vereinzelten Leberzellnekrosen bzw. -degenerationen verbunden waren, hier nicht auftrat, obwohl die Tetrachlorkohlenstoffintoxikation mit Sicherheit zu einer diffusen Leberparenchymschädigung geführt hatte. Das scheint darauf hinzudeuten, daß eine Hyper-α-Globulinämie beim Rind nur solche Leberzellschäden deutlich anzeigt, die bei chronisch fortschreitenden Erkrankungen auftreten.
Für die Erkennung und Beurteilung akuter Leberschäden des Rindes dürfte von den im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführten klinischen Laboruntersuchungen die Prothrombinbestimmung am geeignetsten sein. Die deutlichsten Gerinnungsstörungen traten im Initialstadium der experimentellen Leberschäden auf. Durch Verlaufsanalysen ließen sich jedoch auch die verschiedenen Phasen der Regeneration verfolgen.

Es erscheint nun von Interesse, die im Rahmen der vorliegenden Arbeit an lebergeschädigten Rindern erhaltenen Ergebnisse den Resultaten gegenüberzustellen, die nach WUHRMANN und WUNDERLY (1952) bei vergleichbaren Hepatopathien des Menschen zu ermitteln sind.

Anhand der hier dargelegten Untersuchungsergebnisse zeigt sich, daß chronische Leberschäden beim Rind häufig zu einer Erhöhung der Gesamteiweißkonzentration zu führen scheinen, während Hepatopathien des Menschen fast regelmäßig mit Hypoproteinämie verbunden sind. Auch für die einzelnen Proteinfraktionen stimmen die Ergebnisse der Humanmedizin mit den bei den vorliegenden Untersuchungen erzielten nur teilweise überein. Das gilt insbesondere für die ß-Globuline, die hier nur in Einzelfällen erhöht waren, während beim Menschen im Verlauf von Lebererkrankungen sehr oft Hyper-ß-Globulinämien auftreten sollen. Signifikante α-Globulinvermehrungen wurden bei den untersuchten Rindern fast nur dann bestimmt, wenn eine chronisch-fortschreitende, mit Parenchymschäden verbundene Lebererkrankung vorlag. Beim Menschen bestehen diese auch bei akuten entzündlichen und degenerativen Prozessen in der Leber. Eine weitgehende Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Humanmedizin wurde für die Konzentrationsver-

schiebungen der Albumin- und der γ-Globulinfraktion gefunden. Doch waren die Abweichungen beim Rind weniger deutlich.

Länger andauernde cholangitische Prozesse führen beim Menschen häufig zur Erhöhung aller Globulinfraktionen. Bei Rindern mit chronischen distomatösen Cholangitiden konnten derartige Dysproteinämien nur vereinzelt ermittelt werden.

Der positive Ausfall der Takata-Reaktion deutet beim Menschen auf eine γ-Globulinvermehrung hin. Für das Rind kann dies anhand der vorliegenden Ergebnisse insofern nicht bestätigt werden, als hier in 2 Fällen auch beim völligen Fehlen von quantitativen Verschiebungen im Serumeiweißbild eindeutig positive Reaktionen erhalten wurden, wogegen der Test auch bei stärkeren Hyper-γ-Globulinämien häufig normal blieb. Bei akuten Leberschäden des Rindes schien der Ausfall der Takata-Reaktion in gewissem Umfang von der Albuminkonzentration abhängig zu sein, was von SCHULER (1957) auch für den Menschen bestätigt wurde. Hypoprothrombinämien konnten bei Rindern mit chronischen Leberschäden nur vereinzelt nachgewiesen werden, während diese beim Menschen öfters, wenn auch meist nur bei hochgradigen Lebererkrankungen, bestehen. Akute Leberschäden wurden bei Rindern ebenso wie beim Menschen durch erheblich verringerte Prothrombinindices angezeigt, doch stiegen die Prothrombinwerte bei experimentell intoxierten Versuchstieren nach sehr kurzer Zeit und z.T. sogar über die Ausgangswerte hinaus wieder an.

Abschließend kann gesagt werden, daß von den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten klinischen Laboruntersuchungen die papierelektrophoretische Serumeiweißanalyse in Verbindung mit der Gesamteiweißbestimmung am ehesten für die Erkennung und Beurteilung chronischer Hepatopathien des Rindes geeignet zu sein scheint. Da aber in einem Teil der Fälle beim Vorliegen chronischer, z.T. sogar erheblicher Leberschäden keine Verschiebungen im Serumeiweißbild zu ermitteln waren, muß betont werden, daß allein

anhand der Ergebnisse der Elektrophorese eine Diagnose nicht zu stellen ist. Das Gleiche gilt auch für den Prothrombinindex.

Wie weit die Bestimmungen der Serumeiweißwerte und des Prothrombins den leberdiagnostischen Wert anderer, gleichzeitig durchgeführter klinischer Laboruntersuchungen erhöhen können, ist im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht zu beantworten. Wie bereits eingangs erwähnt, stellt diese nur ein Teilstück umfassender Untersuchungen über die Brauchbarkeit in der Humanmedizin bewährter Funktionsproben für die Leberdiagnostik beim Rind dar. Erst durch die zusammenfassende Auswertung aller dabei erhaltenen Ergebnisse wird eine vergleichende Beurteilung der verschiedenen Tests möglich sein.

IV. ZUSAMMENFASSUNG

Die Brauchbarkeit der papierelektrophoretischen Serumeiweißanalyse, der Gesamteiweiß- und der Prothrombinbestimmung sowie der abgestuften Takata-Reaktion für die Leberdiagnostik beim Rind wurde an insgesamt 100 Tieren geprüft.

Bei Untersuchungen an 20 klinisch gesunden Schlachtrindern, deren Lebern sich makroskopisch und histologisch als unverändert erwiesen, wurden für die Serumeiweißwerte, den Prothrombinindex und die Takata-Reaktion erhebliche normale Abweichungen gefunden.

Bestimmungen an 76 Schlachtrindern mit verschiedenen makroskopisch und histologisch nachgewiesenen Leberschäden erbrachten in der Mehrzahl der Fälle zumindest für eine der durchgeführten Laboruntersuchungen Werte, die die mittlere normale Streuung überschritten.

Am häufigsten zeigte sich das Serumeiweißbild verändert. Das Albumin war in 50 % der Fälle relativ (in %) und in 26 % der Fälle auch absolut (in g%) vermindert, wobei z.T., aber nicht regelmäßig, Relationen zwischen dem Grad der Leberveränderungen und der Stärke des Abfalls dieser Fraktion zu erkennen waren. Beim Vorliegen von Leberzellnekrosen und -degenerationen wurde durchschnittlich und in der Mehrzahl der Einzelfälle eine deutliche Erhöhung des auf die Gesamteiweißkonzentration bezogenen absoluten α -Globulinwertes ermittelt. Eine strenge Spezifität bestand dabei jedoch nicht, da diese Proteinkomponente in Einzelfällen auch bei weiteren Leberveränderungen angestiegen war. Als völlig unspezifisch erwies sich das Verhalten der ß-Globuline. Hier wurden erhöhte und z.T. auch erniedrigte, am häufigsten jedoch im Normalbereich liegende Werte gefunden. Hyper- γ -Globulinämien konnten bei nahezu 50 % der Fälle bestimmt werden. Sie waren regelmäßig nicht nur mit einer Hypalbuminämie sondern auch mit einer Erhöhung der Gesamteiweißkonzentration verbunden, die allerdings nur teilweise deutlich war.

Insgesamt wurden für das Gesamteiweiß bei den untersuchten lebergeschädigten Schlachtrindern in 62 % der Fälle normale Werte ermittelt. Nur 31 % der Tiere wiesen Hyperproteinämien und lediglich 7 % eine Verminderung der Gesamteiweißkonzentration auf. Eindeutige Relationen zwischen dem Grad der Leberschädigung und dem Ausfall der Ergebnisse bestanden dabei nicht.

Bei der Takata-Reaktion wurden nur in 9 % der Fälle positive Ergebnisse erzielt, wobei ebenfalls keine Abhängigkeit der Resultate vom Grad oder der Art der Hepatopathien zu erkennen war. Es ließ sich auch kein Zusammenhang des Ausfalls dieses Tests mit den Serumeiweißwerten nachweisen. In 2 Fällen wurden sogar positive Reaktionen erhalten, obwohl die Serumproteine in normalen Relationen und Konzentrationen vorlagen.

Eindeutig verminderte Prothrombinindices konnten bei 18 und Hyperkoagulämien bei 2 der 76 untersuchten lebergeschädigten Schlachtrinder ermittelt werden. Diese Abweichungen bestanden ausschließlich bei Distomatose-Fällen. Beziehungen zwischen dem Grad der Leberveränderungen infolge des Leberegelbefalls und den Ergebnissen der Gerinnungsbestimmungen bestanden jedoch nicht.

Bei 4 experimentell durch Tetrachlorkohlenstoff akut lebergeschädigten Rindern konnten für das Prothrombin die stärksten Abweichungen nachgewiesen werden. Der Index war hier 24 Stunden nach der ersten Applikation bis auf maximal 61 % vermindert und zeigte den Leberschaden damit sicher an. Die Intensivierung des Leberschadens durch eine zweite Gabe von Tetrachlorkohlenstoff ließ sich jedoch anhand der gemessenen Gerinnungswerte nicht erkennen, in der Ausheilungsphase wurde dagegen die Tendenz zur Hyperprothrombinämie deutlich.

Die Tetrachlorkohlenstoffintoxikation führte vorübergehend auch zu einem Abfall der Gesamteiweißkonzentration auf Kosten des Albumins bei gleichzeitigem geringgradigen Anstieg der Globuline. Die Ergebnisse der Takata-Reaktion erwiesen sich bei diesen akuten Leberschäden als weitgehend abhängig von der Albuminkonzentration.

Für die Leberdiagnostik beim Rind kann der Serumeiweiß-analyse ein gewisser Wert zugesprochen werden. Sie scheint nach den vorliegenden Ergebnissen insbesondere für die Erkennung von chronischen fortschreitenden Hepatopathien, die mit Leberparenchymschäden verbunden sind, geeignet zu sein. In Übereinstimmung mit anderen Autoren muß jedoch festgestellt werden, daß die Resultate der Elektrophorese diagnostisch nur in Verbindung mit denen anderer Laboruntersuchungen verwertbar sind, und daß das Serumeiweißbild auch beim Vorliegen erheblicher Leberschäden durchaus normal sein kann. Einen geringen diagnostischen Wert hat die Takata-Reaktion beim Rind. Dagegen deutet ein stark verminderter Prothrombinindex auf eine initiale Leberschädigung hin, wobei allerdings zu berücksichtigen ist, daß auch andere Erkrankungen des Rindes Hypoprothrombinämien verursachen.

Ob die Ergebnisse der elektrophoretischen Serumeiweiß-analyse und der Prothrombinbestimmung beim Rind überhaupt einen leberspezifischen Aussagewert haben können, ist im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht zu beantworten, muß jedoch auf Grund der bei anderen Tieren und beim Menschen durchgeführten Untersuchungen angezweifelt werden.

V. LITERATURVERZEICHNIS

1. ALTMEYER, A. (1939) Ist die Takata-Reaktion eine brauchbare Leberfunktionsprüfung beim Rinde?
Vet.med.Diss. Hannover

2. ANTWEILER, H.J. (1957) Die quantitative Elektrophorese in der Medizin. 2. Aufl.
Springer-Verl., Berlin-Göttingen-Heidelberg

3. BALKO, B.S. (1956) Über die Gerinnungsvalenz des Plasmas gesunder und leberkranker Hunde.
Vet.med.Diss. Hannover

4. BEGEMANN, H. u. H.G.HARWERTH (1961) Praktische Hämatologie.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart

5. BENNHOLD, H., H. OTT u. M. WIECH (1950) Über den Bindungsunterschied lebergängiger und nierengängiger Substanzen an die Serumeiweißkörper.
Dtsch.med.Wschr. 75, 11

6. BERCHTOLD, H. (1957) Technik einer einfachen und genauen Methode zur Serum-Eiweißbestimmung .
Laboratoriumsblätter 7, H.2,S.48

7. BODA, K. (1959) Die Testung des K-Vitamins als Leberfunktionsprobe bei Rindern.
Vet.Casopis 8, 126
Ref.in: Vet.med. 12, 455

8. BOGUTH, W. (1954) Papierelektrophoretische Serumuntersuchungen bei Haussäugetieren 1. u. 2. Mitt. Zbl.Vet.med. 1, 168 u. 311, Vet.-med.Habil.-Schr. Gießen 1953

9. BRADISH, C. u. Mitarb. (1954) Electrophoretic Studies of Ox Serum.
Biochem.J. 36, 329

10. BRÖSSNER, O. (1948) Vergleichende Untersuchungen über die Blutgerinnungszeit und den Prothrombinwert bei verschiedenen Krankheiten des Hundes.
Vet.med.Diss. Wien

11. BÜCHNER, M. (1958) Moderne chemische Methoden in der Klinik.
Thieme Verl., Leipzig

12. BURUIANA, L.M. u. K.RAUCHBACH (1956) Die Prothrombinämie und ihre Bestimmung bei Mensch und Tier. Mhefte Vet.med. 11, 83

13. CHOPARD, P. (1954) Bestimmung der Eiweißfraktionen des Blutserums bei den Haustieren mit der Papierelektrophorese unter Berücksichtigung verschiedener Faktoren. Vet.med.Diss. Bern

14. CONRADS, F. (1957) Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Leberfunktionsprüfung durch Belastung mit Prontosil beim Rind. Vet.med.Diss. Hannover

15. CREMER, H.D. u. A.TISELIUS (1950) Elektrophorese von Eiweiß in Filtrierpapier. Biochem.Z. 320, 273

16. CZERNICKI, B. (1957) Elektrophoretische Untersuchungen an Rinderserum. Zbl.Vet.med. 4, 588

17. CZERNICKI, B. (1959) Zur Frage des elektrophoretischen Nachweises der Brucelloseinfektion. Berl.Münch.Tierärztl.Wschr. 72, 89

18. DURRUM, E.L. (1950) A microelectrophoretic and microjontophoretic technique. J.Amer.Chem.Soc. 72, 2943

19. EBEL, K.H. (1953) Papierelektrophorese der Blutproteine von Hund, Rind und Kalb. Vet.med.Diss. Hannover

20. EBEL, K.H. (1953) Papierelektrophoretische Untersuchungen der Bluteiweißverhältnisse bei Hunden, Rindern und Kälbern. Zbl.Vet.med. 1, 70

21. EBERHARD, H. (1956) Untersuchungen über die Bindung von Farbstoffen an Proteine auf Filterpapier und ihre Bedeutung für die Auswertung von Papierelektropherogrammen. Röntgen- und Laborat.praxis 9, 249 u. 283

22. EDSALL, J.T. (1947) The plasma proteins and their fractionation. Adv.Prot.Chem. 3, 383

23. EIKMEIER, H. (1958) Diagnostische Untersuchungen über Lebererkrankungen des Hundes. Vet.-med.Habil.-Schr., Gießen

24. EIKMEIER,H. u. H.MOEGLE (1959) Papierelektrophoretische Serumeiweißuntersuchungen bei verschiedenen Krankheiten des Hundes. Zbl.Vet.med. 6, 538

25. EWERBECK, H. (1957) in: ANTWEILER, H.J., Die quantitative Elektrophorese in der Medizin.(2)

26. FISCHER, W. (1956) Weiterer Beitrag zur Brauchbarkeit der Methylenblauprobe für den Bilirubinnachweis im Rinderharn. Vet.med.Diss. Hannover

27. FRANK, H. u. KOECHER, P.H. (1950) Der Serumeiweißspiegel beim Menschen nach Untersuchungen mit der Biuretmethode. Dtsch.Arch.Klin.Med. 197, 181

28. FRANZ, W. (1961) Papierelektrophoretische Untersuchungen der Serumeiweißfraktionen einseitig gefütterter Rinder im Rahmen einer langfristigen Verlaufsanalyse. Arch.exper.Vet.med. 15, 771

29. FREESE, U. (1952) Die Leberfunktionsprobe mit Bromsulphalein beim Rind. Vet.med.Diss. Hannover

30. FREUDIGER, U. (1954) Untersuchungen über die Gerinnungsvalenz am Plasma gesunder und kranker Hunde. Zbl.Vet.med. 1, 735

31. GEHRING, W. (1954) Die Prothrombinzeitbestimmung bei Rind und Pferd. Vet.med.Diss. FU Berlin

32. GEINITZ, W. (1954) Über Serumeiweiße von Tieren, die häufig als Versuchstiere oder zur Gewinnung von Heilserum dienen. Klin.Wschr. 32, 1108

33. GOHR, H. (1960) Die Bedeutung des Leberstoffwechsels für die Erkennung und Beurteilung der Leberkrankheiten unter besonderer Berücksichtigung der Leberfunktionsproben. Wissenschaftl.Beiblatt zur Materia Medica Nordmark, Nr. 40, Oktober

34. GOLDHAMMER, H. (1955) Das Eluierverfahren mit Amidoschwarz bei der papierelektrophoretischen Auswertung. Laboratoriumsblätter 5, H. 1, S.1

35. GORISEK, J. (1952) Protrombinsko vrijeme i ostatak protrombina. Vet.Arhiv 22, 359

36. GORISEK, J. (1958) Die Bestimmung des Prothrombingehaltes von Blutplasma und Blutserum als Leberfunktionsprüfung beim Pferd. Dtsch.tierärztl.Wschr. 65, 268

37. GRASSMANN, W. und K. HANNIG (1950) Ein einfaches Verfahren zur kontinuierlichen Trennung von Stoffgemischen auf Filterpapier durch Elektrophorese. Naturwiss. 37, 496

38. GRASSMANN, W. und K. HANNIG (1952) Ein quantitatives Verfahren zur Analyse der Serumproteine durch Papierelektrophorese. Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chem. 290, 1

39. GRASSMANN, W. und K. HANNIG (1954) Beiträge zur Methodik der papierelektrophoretischen Serumanalyse. Klin.Wschr. 32, 838

40. GRASSMANN, W., u. Mitarb. (1951) Über ein Verfahren zur elektrophoretischen Bestimmung der Serumproteine auf Filterpapier. Dtsch.med.Wschr. 76, 333

41. GREVE, D. (1957) Mikroelektrophoretische Untersuchungen der Serumproteinverhältnisse des Rindes bei Leukose, Brucellose und Tuberkulose. Vet.med.Diss. Hannover

42. GROSS, R., H.NIETH und E.MAMMEN (1958) Blutungsbereitschaft und Gerinnungsstörungen bei Urämie. Klin.Wschr. 36, 107

43. GRÜNDER, H.-D. (1961) Der diagnostische Wert einiger Leberuntersuchungsmethoden beim Rind unter besonderer Berücksichtigung der Serumtransaminasenbestimmung. Dtsch.tierärztl.Wschr. 68, 677

44. GRÜTTNER, R. (1954) Zur Messung von Papierelektrophoresen und -chromatogrammen durch Messung reflektierter Strahlung. Klin.Wschr. 32, 263

45. GUTMAN, A.B. (1948) The plasma proteins in disease. Adv.Prot.Chem. 4, 156

46. HALLMANN, L. (1958) Klinische Chemie und Mikroskopie. 8. Aufl. Thieme Verl., Stuttgart

47. HANSEN, R.G. und P.H.PHILLIPS (1947) J.Biol.Chem. 171, 223 zit.nach EWERBECK (25)

48. HARTUNG, J. (1954) Papierelektrophoretische Untersuchungen an Blutserum gesunder und kranker Rinder unter besonderer Berücksichtigung der Leukose. Vet.med.Diss. Hannover

49. HAUGAARD, G. und T. KRONER (1948) J.Amer.Chem.Soc. 70, 2135 zit.nach WUHRMANN und WUNDERLY (134)

50. HEIDRICH, K.M. (1954) Die Methylenblauprobe zum Bilirubinnachweis im Rinderharn und ihre Verwertbarkeit für die Diagnose der Lebererkrankungen. Vet.med.Diss. Hannover

51. HEINRICH, H.G. (1957) Die Bedeutung der Gerinnungsanalyse des Blutes für die Diagnostik von Lebererkrankungen. Zschr.inn.Med. 12, 594

52. HEWITT, L.F. (1936) Biochem.J. 30, 2229 zit. nach WUHRMANN und WUNDERLY (134)

53. HUHN, J.E. (1961) Leberfunktionsstörungen und Leberfunktionsproben beim Rind. Zbl.Vet.med. 8,842

54. HUHN, J.E. (1961) Die Brauchbarkeit einiger Laboruntersuchungen zur Leberdiagnostik beim Rind. Berl.Münch.tierärztl.Wschr.74,308

55. JEZLER, A. (1934) Klinische Erfahrungen mit der modifizierten Takatareaktion Klin.Wschr. 13,1276

56. JÜRGENS, J. (1952) Über das Verhalten antithrombischer Substanzen bei Erkrankungen der Leber. Dtsch.Arch.klin.Med. 200, 67

57. JÜRGENS, R. und F.K.BELLER (1959) Klinische Methoden der Blutgerinnungsanalyse. Thieme Verl., Stuttgart

58. KALMS, W. (1957) Papierelektrophoretische Untersuchungen des Serums gesunder Rinder. Vet.med.Diss. Leipzig

59. KNÜCHEL, F. und I.GANTER (1948) Eine Methode zur gleichzeitigen Bestimmung des Gerinnungsablaufs und des Fibrinogens. Klin.Wschr. 26,557

60. KOLLER, F. (1941) Das Vitamin K und seine klinische Bedeutung. Thieme Verl., Leipzig

61. KNORR, F. (1960) Mikroelektrophoretische Serumeiweißuntersuchungen an Rindern während der Geburt und im Puerperium. Vet.med.Diss. Hannover

62. KONA, E. (1957) Elektrophoretische Untersuchungen der Proteinfraktionen von Serum und Pericardialflüssigkeit von Schafen mit Leberegelbefall. Vet.Casopis 6, 146 Ref.in: Vet.med. 12, 139 (1959)

63. KONA, E. (1957) Elektrophoretische Serumuntersuchungen bei Schafen mit schwerem Leberegelbefall. Sborn.Ces.Akad.zemedelsk.Ved.Vet. Med. 30, 159 Ref.in: Vet.med. 12,139 (1959)

64. KONIAKOWSKY, L. (1950) Photometrische Eiweißbestimmung mit der Biuretraktion. Dtsch.med.Rdsch. 4, 281

65. KREITER,K. (1956) Papierelektrophoretische Serumeiweißbestimmungen bei Rindern während und außerhalb der Brunst. Vet.med.Diss. München

66. KRISPIEN, H. (1952) Beitrag zur Diagnostik von Leberschäden beim Rind in der Praxis. Tierärztl. Umschau 7, 118

67. KRÜGER-THIEMER, E. und W. REIF (1956) Auswertung von Papierelektropherogrammen. Klin.Wschr. 34, 205

68. KUNDE, H. (1960) Die Papierelektrophorese des Blutserums bei verschiedenen Erkrankungen der Pferde. Vet.med.Diss. Berlin, Humboldt-Univ.

69. LASCH, H.G. und L.ROKA (1954) Über den Bildungsmechanismus der Gerinnungsfaktoren Prothrombin und Faktor VII. Klin.Wschr. 32, 461

70. LENZ, R. (1955) Über den Einfluß von Oestrus und Gravidität auf die Blutgerinnungszeit. Vet.med.Diss. München

71. LENZ-DOROSCHKIN, I. (1955) Verleichende Prothrombinzeitbestimmungen bei Haustieren. Vet.med.Diss. München

72. LETTOW, E. (1958) Leberfunktionsproben beim Hund. Kleintierpraxis 3, 34

73. LETTOW, E. (1960) Experimentelle und klinische Untersuchungen zur Diagnose der Lebererkrankungen des Hundes. Vet.-med. Habil.-Schr. FU Berlin

74. LÜNEBURG, H. (1953) Papierelektrophoretische Bluteiweißbestimmungen bei Rindern unter Berücksichtigung des pathologisch-anatomischen Befundes. Vet.med.Diss. München

75. MAGLAJLIC, E., und Mitarb. (1959) Labilitetni pokusi serumskih bjelancevina i protrombinsko vrijeme kod distomatoze goveda. Veterinaria. Sarajevo 8, 229

76. MAGLAJLIC, E. u. Mitarb. (1959) Vrijednosti i odnosi serumskih bjelancevina kod distomatoznih goveda, Veterinaria. Sarajevo 8, 525

77. MANCKE, R. und J. SOMMER (1936) Die abgestufte Takata-Reaktion im Serum zur Diagnose von Leberkrankheiten. Münch.med.Wschr. 83, 1707

78. MAREK, J. und J.MOČSY (1956) Lehrbuch der klinischen Diagnostik der inneren Krankheiten der Haustiere. 5. Aufl. G. Fischer Verl., Jena

79. MARGGRAFF, I. (1961) Zur Frage der Gesamteiweißbestimmung im Blutserum verschiedener Tiere. Mhefte Tierhk. 13, 96

80. MICHL, H. (1952) Über die quantitative Auswertung von Elektrophoresediagrammen auf Filtrierpapier. Mhefte Chemie 83, 210

81. MONCKE, C. (1956) Zur Stabilität bei der Papierelektrophorese verwendeter Farbstoffe in alkalischen Lösungen. Klin.Wschr. 34, 100

82. MONTIGEL, C. (1952) Zur Methodik der Prothrombinzeitbestimmung. Therap. Umschau 9, 17

83. MONTIGEL, C. und R. PULVER (1952) Die Bestimmung der Prothrombinzeit mit der Thrombokinase "GEIGY" Schweiz.med. Wschr. 82,132

84. MORAWITZ, P. (1905) Ergebn.Physiol. 4,307
Ergebn.Physiol. 4,368
zit.nach GEHRING(32)

85. MÜLLER, U. (1958) Prothrombinzeitbestimmungen bei gesunden und kranken Hunden im Vergleich mit anderen Leberfunktionsprüfungen. Vet.med.Diss. Gießen

86. MÜLLER, U. (1959) Der Wert der Prothrombinzeitbestimmung als Leberfunktionsprobe beim Hund. Tierärztl.Umschau 14, 367

87. MÜLLER, J. u. Mitarb. (1961) Papierelektrophoretische Serumuntersuchungen bei verschiedenen Erkrankungen des Pferdes. Mhefte Vet.med. 16, 505

88. NILSSON, T. und B.ABERG (1956) Proteins and protein-bound-carbohydrates in normal bovine serum. Nord.vet.-med. 8, 975

89. PERK, K. und LOBL, K. (1959) Die Serumeiweißfraktionen im Rinderblut-eine chemische und papierelektrophoretische Studie. Schweiz.Arch.Tierhk. 101, 548

90. PERK, K. und K. LOBL (1961) Chemical and electrophoretic studies of the serums of cattle infected naturally with Asia-1 Type foothand-mouth-disease virus. Amer.J.Vet.Res. 22, 217

91. PERLICK, E. (1951) Prothrombinbestimmungsverfahren als Leberfunktionsprüfung. Klin.Wschr. 29, 577

92. PEZOLD, F.A. und A.KOFES (1954) Beitrag zur Photometrie gefärbter Filtrierpapierstreifen mittels des Transparenzverfahrens. Klin.Wschr. 32, 504

93. PHILIPS, R. u. Mitarb. (1945) Copper sulfate method for measuring specific gravities of whole blood and plasma. Jos.Macy Jr. Foundation, April zit. nach WUHRMANN und WUNDERLY (134)

94. PIEPER, J. (1959) Über erhebliche Mängel papierelektrophoretischer Verfahren und deren mögliche Behebung. Zschr.exper.Med. 131, 359

95. PIEPER, J. (1959) Über zwei wichtige Fehlerquellen und ihre Ausschaltung in der Papierelektrophorese. Klin.Wschr. 37, 609

96. PIEPER, J. (1961) Bemerkungen zu automatischen Auswertegeräten für Papier-Pherogramme. Klin.Wschr. 39, 1296

97. PIEPER, J. (1961) Untersuchungen über Membranfolien als Trägermaterial in der Elektrophorese. Klin.Wschr. 39, 1293

98. PIEPER, J. und H.MOLINSKY (1954) Zur Methodik der Papierelektrophorese nach Grassmann und Hannig. Klin.Wschr. 32, 985

99. PINKIEWICZ, E. (1961) Die Gerinnungsfaktorenwerte der I.Phase bei kranken Hunden. Wien.tierärztl.Mschr. 48, 78

100. PLATEN, J. (1938) Quantitative Bestimmung der Urobilinfarbstoffe im Harn kranker Rinder. Vet.med.Diss. Hannover

101. QUICK, A. J. (1935) On Various Properties of Thromboplastin (Aqueous Tissue Extracts). Amer.J.Physiol. 114, 282

102. QUICK, A. J. (1937) The coagulation defect in sweet clover disease and in the hemorrhagic chick disease of dietary origin. Amer.J.Physiol. 118, 260

103. QUICK, A.J. (1938) Amer.J.Physiol. 123, 712 zit.nach SCHWICK (1961)

104. QUICK, A.J. (1938) J.Amer.Med.Assoc. 110, 1658 zit. nach WUHRMANN und WUNDERLY(134)

105. QUICK, A.J. (1947) Amer.J.Med.Sci. 214, 272 zit.nach SCHWICK (118)

106. RIEBEN, W.K. (1947) Beiträge zur Kenntnis der Blutgerinnung. B. Schwabe Verl., Basel

107. RÖTTGER, H. (1953) Ein neues lichtelektrisches Auswertgerät des Papierelektrophoresestreifens. Klin.Wschr. 31, 85

108. ROSS, W. (1931) Versuche zur Leberfunktionsprüfung beim Rind. Vet.med.Diss. Hannover

109. SCHÄFER, H. (1951) Leberfunktionsprüfungen. Wiss.Verl.-Ges., Stuttgart.

110. SCHÄFER, J. (1959) Mikroelektrophoretische Untersuchungen der Serumproteinverhältnisse des Rindes bei chirurgischen Erkrankungen. Vet.med.Diss. Hannover

111. SCHEIFFAHRTH, F. u. Mitarb. (1956) Untersuchungen zur Verwertbarkeit der Plasmaelektrophorese auf Filterpapier mit vergleichender kjeldahlometrischer Fibrinogenbestimmung. Klin.Wschr. 34, 1282

112. SCHIN TSIN-DA, u. Mitarb. (1959) Elektrophoretische Untersuchungen der Eiweißfraktionen des Blutes bei der Rindertuberkulose. (Russ.) Veterinarija 36, 19

113. SCHLEINKOFER, M. (1956) Papierelektrophoretische Untersuchungen über die quantitativen Verhältnisse der Serumeiweißfraktionen beim trächtigen Rind. Vet.med.Diss. München

114. SCHMID, J. (1951) Die Blutgerinnung in Theorie und Praxis. Verl. Maudrich, Wien

115. SCHNITGER, H. und R.GROSS (1954) Über ein Universalgerät zur automatischen Registrierung von Gerinnungszeiten. Klin.Wschr. 32, 1011

116. SCHULER, B. (1957) in: ANTWEILER, H.J.- Die quantitative Elektrophorese in der Medizin (2)

117. SCHULTZE, H.E. und G.SCHWICK (1953) Beiträge zur Diagnostik von Gerinnungsstörungen. Laboratoriumsblätter, H. 2

118. SCHWICK, G. (1961) Beiträge zur Diagnostik von Gerinnungsstörungen. Laboratoriumsblätter, H. 1

119. SLOTTA, K. u. Mitarb. (1954) Der "Sog" in der Papierelektrophorese. Hoppe-Seyler's Zschr.physiol. Chem. 296, 141

120. STAMATOVIC, S.M. (1953) Ein Beitrag zur Kenntnis und Verwertung der Bestimmung der Prothrombinzeit bei den Rindern als Methode für die Untersuchung des funktionellen Leberzustandes. (Serb.) Vet.med.Diss. Belgrad. Autoref.in: Acta vet. Belgrad 4, Fasc. 2, 99 (1953)

121. STÖCKL, W. (1956) Elektrophoretische Serumuntersuchungen bei Haustieren unter normalen Bedingungen und nach Antigenzufuhr. Wien.tierärztl.Mschr. 43, 226 u. 402

122. TEICHMANN, I.R. (1958) Mikroelektrophoretische Untersuchungen der Serumproteine des Rindes bei verschiedenen inneren Krankheiten. Vet.med.Diss. Hannover

123. TEPE, H.-J. (1958) in: Photometr. Analysen Zeiss, Medizin

124. TISELIUS, A. (1937) Trans. Faraday Soc. 33, 524 zit. nach ANTWEILER (2)

125. TISELIUS, A. und E.A. KABAT (1939) J.exper.Med. 69, 119 zit.nach WUHRMANN und WUNDERLY (134)

126. TURBA, F, und A.J.ENENKEL (1950) Elektrophorese von Proteinen in Filtrierpapier. Naturwiss. 37, 93

127. UCKO, H. (1942) J.Labor.Clin.Med. 28, 17 zit. nach WUHRMANN und WUNDERLY (134)

128. WALLNER, A. und R.ULKE (1952) Auswertung von Diagrammen aus Elektrophoreseversuchen. Hoppe-Seyler's Zschr.physiol.Chem. 290, 81

129. WEIGER, G. (1953) Über den Einfluß von Oestrogenen auf die Blutgerinnung. Vet.med.Diss. München

130. WERNER, F. (1960) Versuche mit dem Bromsulphalein-Test zur Prüfung der Leberfunktion bei gesunden, kranken und mit Tetrachlorkohlenstoff intoxierten Rindern. Vet.med.Diss. FU Berlin

131. WIELAND, T. und FISCHER, E. (1948) Über Elektrophorese auf Filtrierpapier. Naturwiss. 35, 29

132. WINKLER, D. (1957) Eiweißmikroelektrophorese am normalen Rinderserum. Vet.med.Diss. Hannover

133. WÜNSCHE, H.G. (1960) Vergleichende papierelektrophoretische Untersuchungen an Abortus-Bang- und Tbc.-freien klinisch gesund erscheinenden Rindern verschiedenen Alters. Arch.exper.Vet.med. 14, 691

134. WUHRMANN, F. und C. WUNDERLY (1952) Die Bluteiweißkörper des Menschen. 2. Auflage Verl. B. Schwabe, Basel

135, WUNDERLY, C. (1954) Die Papierelektrophorese. Verl. Sauerländer, Aarau u. Frankfurt a.M.

136. ZERZAWY, E. (1958) Papierelektrophoretische Untersuchungen des Blutserums klinisch gesunder Kühe und deren neugeborener Kälber.
Vet.med.Diss. München

137. ZIMMERLI, J. (1955) Die Eiweißfraktionen im Blutserum der Rinder unter Abhängigkeit von verschiedenen chronischen Krankheiten, insbesondere der Tuberkulose.
Vet.med.Diss. Bern

Nachtrag

138. SCHNEIDER, L. (1957) Die Prothrombinzeit nach QUICK beim Hund.
Vet.med.Diss. FU Berlin

Für die Überlassung des Themas und die Förderung bei der Durchführung meiner Aufgabe bin ich Herrn Professor Dr. H e i d r i c h zu großem Dank verpflichtet.

Gleichfalls möchte ich Herrn Oberassistenten Dr. H u h n für die Überlassung der histologischen Befunde und für die jederzeit gewährte, freundliche Unterstützung danken.

Mein Dank gilt weiter der medizinisch technischen Assistentin Fräulein Hoffmann, die mir bei der Durchführung der Untersuchungen behilflich war.

Lebenslauf

Am 26. März 1934 wurde ich als vierter Sohn des Arztes Dr. med. Rudolf Haubold und seiner Ehefrau Katharina, geborene Matzdorf, in Bautzen geboren.

Nach vierjähriger Grundschulzeit besuchte ich von 1944 bis zur Reifeprüfung am 16. Juni 1952 die Friedrich-Schiller-Oberschule in Bautzen.

Anschließend war ich ein Jahr lang als Tierzuchtpraktikant auf dem Staatsgut Pommritz bei Bautzen tätig.

Nach erneutem Schulbesuch legte ich am 28. Juni 1954 an der III. Oberschule in Berlin-Neukölln die Zusatz-Reifeprüfung ab und begann im September 1954 mit dem veterinärmedizinischen Studium an der Freien Universität Berlin. Am 1. Oktober 1956 bestand ich dort die tierärztliche Vorprüfung und beschloß das Studium am 10. März 1960 mit der tierärztlichen Prüfung.

Nach sechsmonatiger Praktikantenzeit an der Klinik für Tiergeburtshilfe und Klauentierkrankheiten der Freien Universität Berlin erhielt ich die Bestallung als Tierarzt zum 16. September 1960.
Vom 15. September 1960 bis zum 30. November 1961 war ich als Assistent beim Rindergesundheitsdienst Lübeck tätig. Anschließend war ich bis zum 30. April 1963 bei den Schlacht- und Viehhöfen in Lübeck beschäftigt. Seitdem arbeite ich als Werkstierarzt bei der Firma Ramikal-Werk Hans Michelsen & Co. in Hamburg.